

**MASSENSPEKTROMETRISCHE FRAGMENTIERUNGSMECHANISMEN
ISOLIERUNG UND STRUKTURAUFKLÄRUNG VON
PYRROLIDINALKALOIDEN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II
der Universität Zürich

von

Felix Roessler
von St. Gallen

Begutachtet von
Herrn Prof. Dr. M. Hesse

1979

Zürich 1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

**MASSENSPEKTROMETRISCHE FRAGMENTIERUNGSMECHANISMEN
ISOLIERUNG UND STRUKTURAUFKLÄRUNG VON
PYRROLIDINALKALOIDEN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II
der Universität Zürich



von

Felix Roessler
von St. Gallen

Begutachtet von
Herrn Prof. Dr. M. Hesse

Zürich 1978



Meinen Eltern

Meinem verehrten Lehrer

Herrn Prof. Dr. Manfred Hesse

unter dessen Leitung die vorliegende Arbeit
ausgeführt wurde, danke ich herzlich für das
stete Interesse und die zahlreichen wert-
vollen Anregungen.

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Ueber die Strukturen von Fragmentationen im Massenspektrometer: Das Ion m/e 84 aus Lysinmethylester	5
1.1. Zusammenfassung	5
1.2. Theoretischer Teil	5
1.2.1. Einleitung	5
1.2.2. Besprechung der Massenspektren	7
1.2.3. Synthesen	17
1.3. Experimenteller Teil	19
2. Das unterschiedliche massenspektrometrische Fragmentierungsverhalten von Lysinmethylester und dessen N,N'-Diacetylderivat	32
2.1. Zusammenfassung	32
2.2. Theoretischer Teil	33
2.3. Experimenteller Teil	40
3. Ruspolia hypercrateriformis M.R.: Isolierung und Strukturaufklärung von neuen Pyrrolidin-Alkaloiden	47
3.1. Zusammenfassung	47
3.2. Einleitung und Strukturableitung	47
3.3. Biogenetische Aspekte	51
3.4. Experimenteller Teil	52
4. Literaturverzeichnis	59

1. Ueber die Strukturen von Fragmentionen im Massenspektrometer: Das Ion m/e 84 aus Lysinmethylester

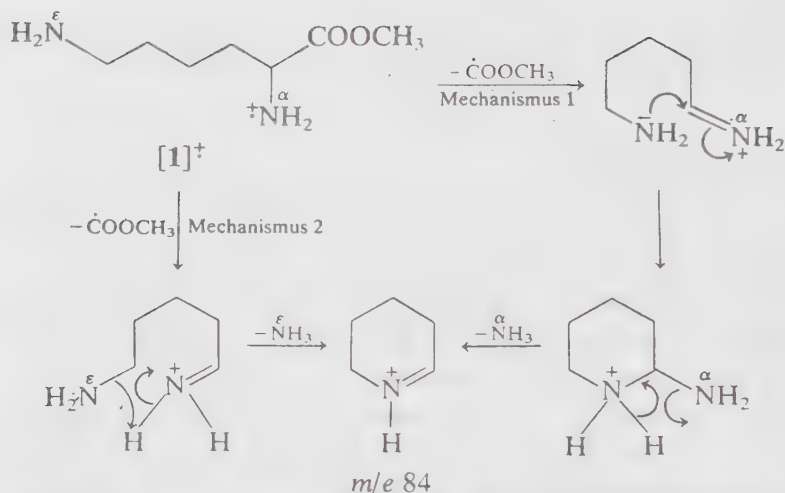
1. Zusammenfassung

Die Entstehungsweise des Ions $[C_5H_9N]^+$ (m/e 84), Basispeak im Massenspektrum von Lysinmethylester, wurde untersucht. $[C_5H_9N]^+$ bildet sich in einer Folge von zwei Reaktionen: Aus dem Molekularion entsteht unter Verlust von $\cdot COOCH_3$ das Primärfragmention $[C_5H_{13}N_2]^+$ (m/e 101), aus dem durch Abspaltung von Ammoniak m/e 84 generiert wird. Das Aufspaltungsmuster von $[C_5H_9N]^+$ in den Massenspektren von neun verschiedenen markierten Lysinmethylestern lässt auf eine hohe Symmetrie im Diaminfragmention $[C_5H_{13}N_2]^+$ schliessen. Durch die Ionenstruktur, welche u.a. eine Aequilibrierung der beiden Stickstoffatome beinhaltet, lassen sich die erhaltenen Resultate am besten erklären.

1.2. Theoretischer Teil

1.2.1. Einleitung

Eine Zusammenfassung des massenspektrometrischen Fragmentierungsverhaltens von α -Aminosäuren und α -Aminosäurederivaten findet sich in Lit. 1. Ueber das massenspektrometrische Fragmentierungsverhalten von α -Aminocarbonsäureestern, insbesondere auch von Lysinäthylester haben Biemann et al. berichtet. Dabei tauchte bei der Fragmentierung von Lysinäthylester das Problem der Entstehungsweise des Basispeaks m/e 84 auf, wofür folgende zwei Mechanismen postuliert wurden (Schema 1):



Schema 1. Bildung von $m/e\ 84$ aus Lysinmethylester (1) entsprechend Lit. 2.

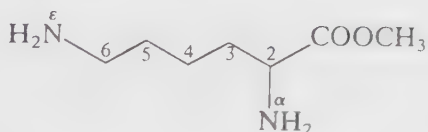
Bei Mechanismus 1 wird N^α , bei Mechanismus 2 N^ϵ als NH_3 abgespalten, nachdem das Molekularion $\cdot COOCH_3$ verloren hat. Aus der Veröffentlichung [2] geht hervor, dass sich die Autoren bei den zwei postulierten Mechanismen auf die Ergebnisse der massenspektrometrischen Fragmentierung von mit ^{15}N markiertem Lysinäthylester stützen. Ausser dem Hinweis, dass die Resultate des mit ^{15}N markierten Lysinäthylesters mit den vorgeschlagenen Mechanismen übereinstimmten, fehlen aber jegliche weitere Angaben sowie Spektren. Weiter fehlen in der Publikation Angaben darüber, welcher Mechanismus bevorzugt abläuft.

Diese Unklarheiten und die Tatsache, dass bei den postulierten Mechanismen für die NH_3 -Abspaltung offenbar stillschweigend nur eine Uebertragung von Wasserstoffatomen zwischen den beiden Stickstoffatomen angenommen wurde, legten eine genauere Untersuchung der Bildungsweise des Hauptfragmentions $m/e\ 84$ von Lysinester anhand von spezifischen Markierungen nahe.

1.2.2. Besprechung der Massenspektren

In der vorliegenden Arbeit wurden als Messsubstanzen die Dihydrochloride der verschiedenen markierten Lysinmethylester (1 - 1i) gewählt, vgl. Tabelle 1. Da nicht auszuschliessen war, dass auch thermische Reaktionen bei der Entstehung der zur Diskussion stehenden Fragmentionen beteiligt sind, wurde die thermische Stabilität der Dihydrochloride durch eine Hochvakuumsublimation von Lysinmethylester-dihydrochlorid (1·2HCl) bei 190°C untersucht, wobei papierchromatographisch

Tabelle 1. Liste der markierten Lysinmethylester und deren Markierungsgrad^a



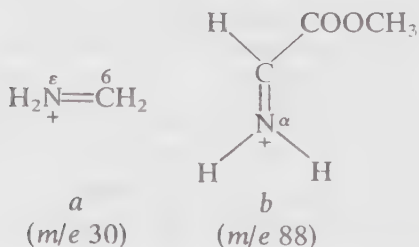
Verbindung Nr	Markierung von 1	Markierungsgrad von [M] ⁺			
		m/e 160	161	162	163
1	—	100			
1a	2- ¹⁵ N	1	99		
1b	2-d ₁	6	93	1	
1c	3,3-d ₂		2	98	
1d	4,4-d ₂		2	98	
1e	5,5-d ₂		9	91	
1f	6,6-d ₂		2	98	
1g	3,3-d ₂ -2- ¹⁵ N			3	97
1h	5,5-d ₂ -2- ¹⁵ N			9	91
1i	6,6-d ₂ -2- ¹⁵ N			3	97

^aDer Markierungsgrad wurde durch Vergleich des Molekularionenpeaks von 1 mit demjenigen der markierten Derivate bestimmt; die Angaben sind um [M+1]- und natürliche Isotopenpeaks korrigiert.

keine Veränderung der Probe eintrat. Die relativen Intensitäten der Peaks im Massenspektrum des sublimierten $\underline{1}\cdot 2\text{HCl}$ zeigten ebenfalls keine Unterschiede im Vergleich zu nicht sublimiertem Lysinmethylester-dihydrochlorid. Ausserdem lag die Messtemperatur für die Massenspektren nur bei 110°C . Eine thermische Nebenreaktion kann daher unter den angegebenen Messbedingungen (s. exp. Teil) ausgeschlossen werden. Die 15 eV-Spektren zeigten gegenüber den 70 eV-Spektren für die zur Diskussion stehenden Fragmentionen keine signifikanten Intensitätsunterschiede.

Das Massenspektrum von Lysinmethylester-dihydrochlorid ($\underline{1}\cdot 2\text{HCl}$) ist in der Abb. 1 abgebildet. Die Diskussion der Fragmentierungsmechanismen erfolgt anhand der Verbindung $\underline{1}\cdot 2\text{HCl}$.

Den bekannten Aminosäure-Fragmentionen m/e 30 und 88 ($\text{C}_3\text{H}_6\text{NO}_2$) kommen aufgrund der Spektren der markierten Lysinmethylester-dihydrochloride die Strukturen a bzw. b zu (vgl. exp. Teil).



Der zweifellos wichtigste und interessanteste Prozess bei der Fragmentierung von Lysinmethylester ist die Bildung des Fragmentions m/e 84 ($[\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}]^+$). Aus dem Molekularion wird durch α -Spaltung zu N^α unter Verlust von $\cdot\text{COOCH}_3$ in einem ersten Schritt das Diaminfragment c ($[\text{C}_5\text{H}_{13}\text{N}_2]^+$) gebildet. In einem zweiten Schritt entsteht aus diesem durch NH_3 -Verlust das Ion m/e 84. Für beide Einzelschritte wurden metastabile Uebergangssignale gemessen.

Für die Bildung von c sind keine Wasserstoffübertragungsreaktionen erforderlich (vgl. Schema 3); die Peaks für das Ion c sind in den Spektren der markierten Lysinmethylester korrekt um eine (Verbindungen la, lb) bzw. um zwei (lc, ld, le, lf) bzw. um drei (lg, lh, li) Einheiten nach höherer Masse verschoben.

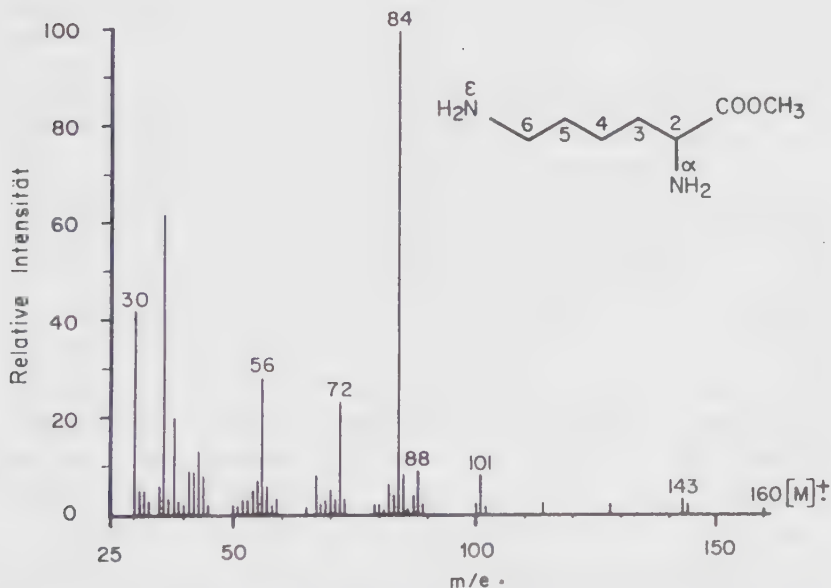


Abbildung 1. Massenspektrum von Lysinmethylester-dihydrochlorid (1·2HCl); Direkteinlass, 70 eV.

In einer Folgereaktion wird NH_3 aus dem Fragmention $[\text{M}-\text{COOCH}_3]^+$ (m/e 101) abgespalten, was, wie erwähnt, zum Ion m/e 84 führt und durch einen starken metastabilen Peak angezeigt wird. Der metastabile Uebergang m/e 101 $\xrightarrow{m^*}$ m/e 84 wurde sowohl den 70 eV-Spektren entnommen als auch durch Defokussierungstechnik bestimmt. Bei den markierten Verbindungen wurden für alle Ionen $[\text{M}-(\text{COOCH}_3 + \text{Ammoniak})]^+$ ein entsprechender metastabiler Uebergang $[\text{M}-\text{COOCH}_3]^+ \xrightarrow{m^*} [\text{M}-(\text{COOCH}_3 + \text{Ammoniak})]^+$ gefunden. Die Aufspaltung des Signals

von $[M - (\text{COOCH}_3 + \text{Ammoniak})]^+$ in den Spektren der markierten Lysinmethylester-dihydrochloride 1a·2HCl-1i·2HCl ist aus Tabelle 2 ersichtlich.

Fasst man die Ergebnisse der Markierungsexperimente zusammen, so ergibt sich bezüglich der Abspaltung von NH_3 aus dem Primärfragmention $[M - \text{COOCH}_3]^+$ folgendes Bild (vgl. Tabelle 2): Das Stickstoffatom des Ammoniaks wird zu etwa gleichen Teilen von den Atomen N^a und N^e gestellt.

Ueber die Herkunft der drei Wasserstoffatome im NH_3 liegen detaillierte Angaben vor. Die Wasserstoffe an den C-Atomen 2, 4 und 6 sind an dieser Zerfallsreaktion nicht beteiligt, wie aus den Spektren der Verbindungen 1b, 1d und 1f hervorgeht. Auch das Spektrum der doppelt markierten Verbindung 1i bestätigt diesen Sachverhalt. Beim Ammoniakverlust aus $[M - \text{COOCH}_3]^+$ werden nur Wasserstoffatome abgespalten, die an Stickstoff und an C(3) und C(5) gebunden sind. Eine direkte Markierung der an N gebundenen Wasserstoffatome wurde nicht durchgeführt. Hingegen hat die Substitution der Wasserstoffatome an C(3) und C(5) durch Deuterium ergeben, dass bei der Bildung von $[M - (\text{COOCH}_3 + \text{Ammoniak})]^+$ zusammen ca. ein Wasserstoffatom aus diesen beiden Positionen stammt (Tabelle 2). Einen eigentlichen Einblick in die wirklichen Verteilungsverhältnisse bei der Ammoniakabspaltungsreaktion gestattet die Analyse der Spektren der beiden doppelt markierten Verbindungen Lysinmethylester-3,3-d₂-¹⁵N (1g) und Lysinmethylester-5,5-d₂-2-¹⁵N (1h). Danach werden aus beiden Molekülen grössenordnungsmässig gleiche Anteile von NH_3 , ¹⁵NH₃, NH₂D und ¹⁵NH₂D abgespalten. Damit kann der früher [2] aufgestellte Mechanismus für diese Reaktion nicht mehr aufrecht erhalten werden, denn der Abbauweg, bei dem nur an N gebundene Wasserstoffatome im NH_3 enthalten sind, ist unrichtig.

Etwas vereinfacht gesehen geht aus diesen Resultaten hervor, dass im Ion $[M - \text{COOCH}_3]^+$ beide Stickstoffatome und die vier

Wasserstoffatome an C(3) und C(5) gleichwertig sind. Obwohl nach Abspaltung der Methoxycarbonylgruppe aus dem Molekularion formell ein bezüglich der Ladungsverteilung unsymmetrisches Fragmention entstanden ist, welches eine eindeutige Unterscheidung zwischen den genannten Atomen gestatten sollte, muss die Weiterreaktion dieses Ions unter Verlust von Ammoniak zu d $[M - (\text{COOCH}_3 + \text{Ammoniak})]^+$ von einem zu c isomeren Ion ausgehen. Dieses isomere Ion muss die oben genannten Bedingungen erfüllen, d.h. es muss einen hohen Symmetriegrad aufweisen und sich damit von c (Schema 3) strukturell unterscheiden.

Tabelle 2. Intensitäten der Peaks der Ionen $[M - (\text{COOCH}_3 + \text{Ammoniak})]^+$

Verbindung: m/e		Berechnet aufgrund vom Mechanismus gemäss Schema 3						Experimentell gefundene Werte*					
Nr.	Markierung	84 $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}$	85 $\text{C}_8\text{H}_{10}^{15}\text{N}$	85 $\text{C}_8\text{H}_9\text{DN}$	86 $\text{C}_8\text{H}_9\text{D}^{15}\text{N}$	86 $\text{C}_8\text{H}_8\text{D}_2\text{N}$	87 $\text{C}_8\text{H}_8\text{D}_2^{15}\text{N}$	84 $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}$	85 $\text{C}_8\text{H}_{10}^{15}\text{N}$	85 $\text{C}_8\text{H}_9\text{DN}$	86 $\text{C}_8\text{H}_9\text{D}^{15}\text{N}$	86 $\text{C}_8\text{H}_8\text{D}_2\text{N}$	87 $\text{C}_8\text{H}_8\text{D}_2^{15}\text{N}$
1	—	100						100					
1a	2- ^{15}N	50	50					51	49				
1b	2- d_1			100				1		99			
1c	3,3- d_2			50				9		50		41	
1d	4,4- d_2				100					2		98	
1e	5,5- d_2			50		50		10		37		53	
1f	6,6- d_2				100					1		99	
1g	3,3- d_2 -2- ^{15}N			25	25	25	25	6	3	27	22*	18*	24
1h	5,5- d_2 -2- ^{15}N			25	25	25	25	4	3	19	23*	27*	23
1i	6,6- d_2 -2- ^{15}N					50	50					50	50

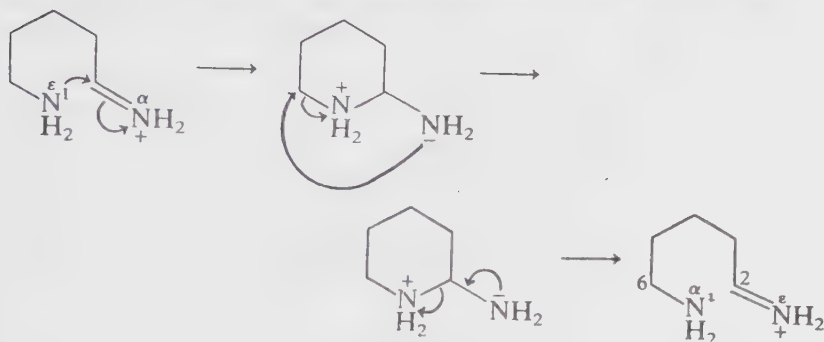
* Die Atomzusammensetzung wurde durch hochauflösende Massenspektrometrie bestimmt. Die Intensitätsangaben sind Mittelwerte aus mindestens 6 Einzelmessungen, die nicht mit den Werten in Tabelle 3 übereinstimmen müssen. Die Werte wurden entsprechend dem Markierungsgrad der Verbindungen (vgl. Tabelle 1) korrigiert; Fehlergrenze ± 2 (ausser*: ± 4). Die angegebenen Intensitäten wurden aus 70 eV-Spektren (Gerät Varian MAT 711) entnommen. Die 12 eV-Spektren zeigen keine signifikanten Unterschiede.

In Schema 3 wird der Mechanismus für die eigentliche Ammoniak-Abspaltung in Analogie zu anderen Zerfallsreaktionen difunktioneller Alkane gemäss $h \rightarrow i \rightarrow d$ formuliert, vgl. Lit. 3: Unter Nachbargruppenwechselwirkung wird ein Proton aus der Allylstellung auf den nicht ladungstragenden Stickstoff übertragen. Die sich anschliessende Ammoniakabspaltung geschieht unter Angriff der allylständigen Aminogruppe an C(2) oder C(6), wobei das cyclische Ion d (m/e 84) entsteht. Bezüglich der Ringstruktur von d vgl. Lit. 4.

Eine Ionenstruktur, welche die Forderung nach Symmetrie voll erfüllt, ist f (Schema 3). Im Gleichgewichtszustand f sind beide Stickstoffatome sowohl an C(2) als auch an C(6) gebunden. Ferner gehört ein Wasserstoffatom von C(6) in f zu C(2) und C(6). Als Vorstufe von f wird e angenommen, welches direkt aus c entsteht. Während im Ion c sowohl die Ladung lokalisiert ist (an N^{α}) als auch alle Wasserstoff-, Stickstoff- und Kohlenstoffatome ebenso wie im Lysinmethylester (1) positionsmäßig eindeutig bestimmt sind, ist dies in den Ionen e und f nicht mehr der Fall. Durch eine reversible Hydrid-Übertragung zwischen den C-Positionen 2 und 6 können beide Stickstoffatome Ladungsträger sein. Mit der Ionenstruktur e im Einklang stehen die Massenspektren der markierten Präparate 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f und 1i. In den Spektren der beiden anderen markierten Verbindungen würde man bei alleiniger Annahme von e andere als die gefundenen Aufspaltungen des Ions $[M-(COOCH_3 + \text{Ammoniak})]^+$ erwarten: für 1g m/e 86 ($C_5H_9D^{15}N$): 86 ($C_5H_8D_2N$) = 1:1 und für 1h m/e 85 (C_5H_9DN): 87 ($C_5H_8D_2^{15}N$) = 1:1. Eine Formulierung, die nur einen Stickstoffaustausch zwischen den Positionen C(2) und C(6) berücksichtigt, vgl. Schema 2, führt ebenfalls nicht zu einer Aufspaltung, die den experimentellen Befunden entspricht. Aufgrund der für 1g und 1h gefundenen Aufspaltung (s. Tabelle 2) müssen die beiden Stickstoffatome bezüglich der Wasserstoffatome an C(3) und C(5) gleichwertig werden. Diese Forderung wird durch das einen Gleichgewichtszustand repräsentierende Ion f erfüllt.

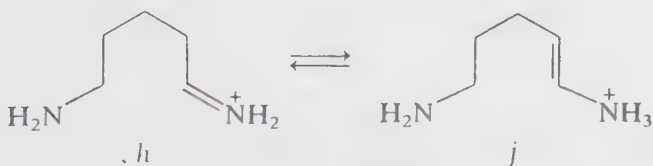
Aus dem Vergleich der aufgrund von Schema 3 berechneten (unter der Annahme einer völligen Aequilibrierung, vgl. Spezies g) und der experimentell gefundenen Aufspaltungen des Basispeaks (vgl. Tabelle 2) geht hervor, dass das Verhalten der Verbindungen 1a, 1b, 1d, 1f und 1i mit dem angegebenen Mechanismus in guter Übereinstimmung steht. Wie aus den Spektren der vier anderen Verbindungen (1c, 1e, 1g und 1h) hervorgeht, wird auch ein Verlust von $N(\alpha, \epsilon)HD_2$ registriert (vgl. Ta-

belle 2). Die entsprechende Reaktion ist nicht mit Schema 3 vereinbar. Vorgängig der Ammoniak-Abspaltung aus m/e 101

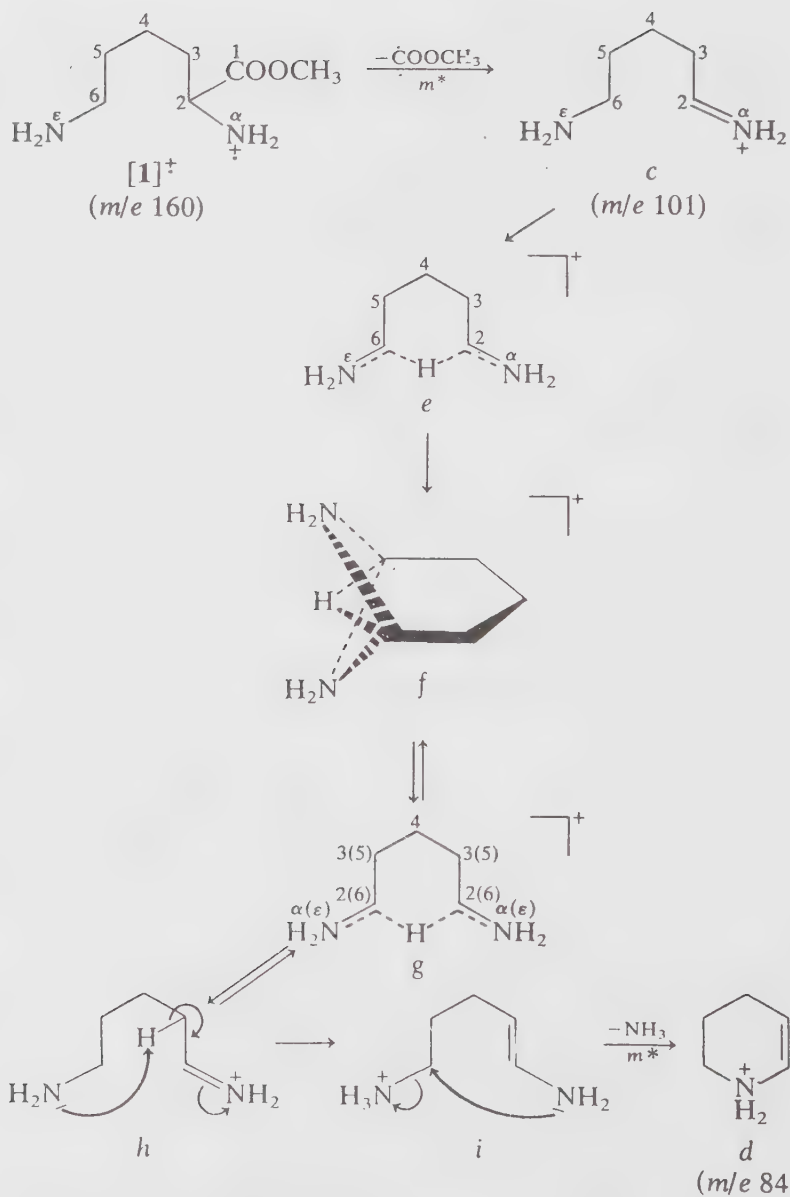


Schema 2

muss demzufolge eine $C(3; 5) - H - N(\alpha; \epsilon)H_2$ -Austausch-Reaktion stattfinden. Dafür existieren zwei Möglichkeiten: Entweder die Reaktion $\underline{h} \rightarrow \underline{i}$ ist reversibel oder $\underline{h}$ steht mit einer weiteren Species $\underline{j}$ in einem nebengelagerten Gleichgewicht (formell: Iminium-Enaminium-Gleichgewicht).



Eine weitere Unstimmigkeit mit der Formulierung der Fragmentierungsreaktion in Schema 3 ergibt sich dadurch, dass Wasserstoffatome aus der Position 3 gegenüber solchen aus Position 5 leicht bevorzugt zusammen mit NH_2 abgespalten werden. Nimmt man die in Tabelle 2 experimentell gefundenen Werte für signifikant genug, d.h. ausserhalb der Fehlergrenzen liegend, so böte sich die in Schema 4 angegebene Alternative an. Darin werden anstelle der Stickstoffäquilibrierung (Schema 3) zwei verschiedene Mechanismen für die Ammoniakabspaltung angenommen. Bei Berücksichtigung dieses Schemas liessen sich die



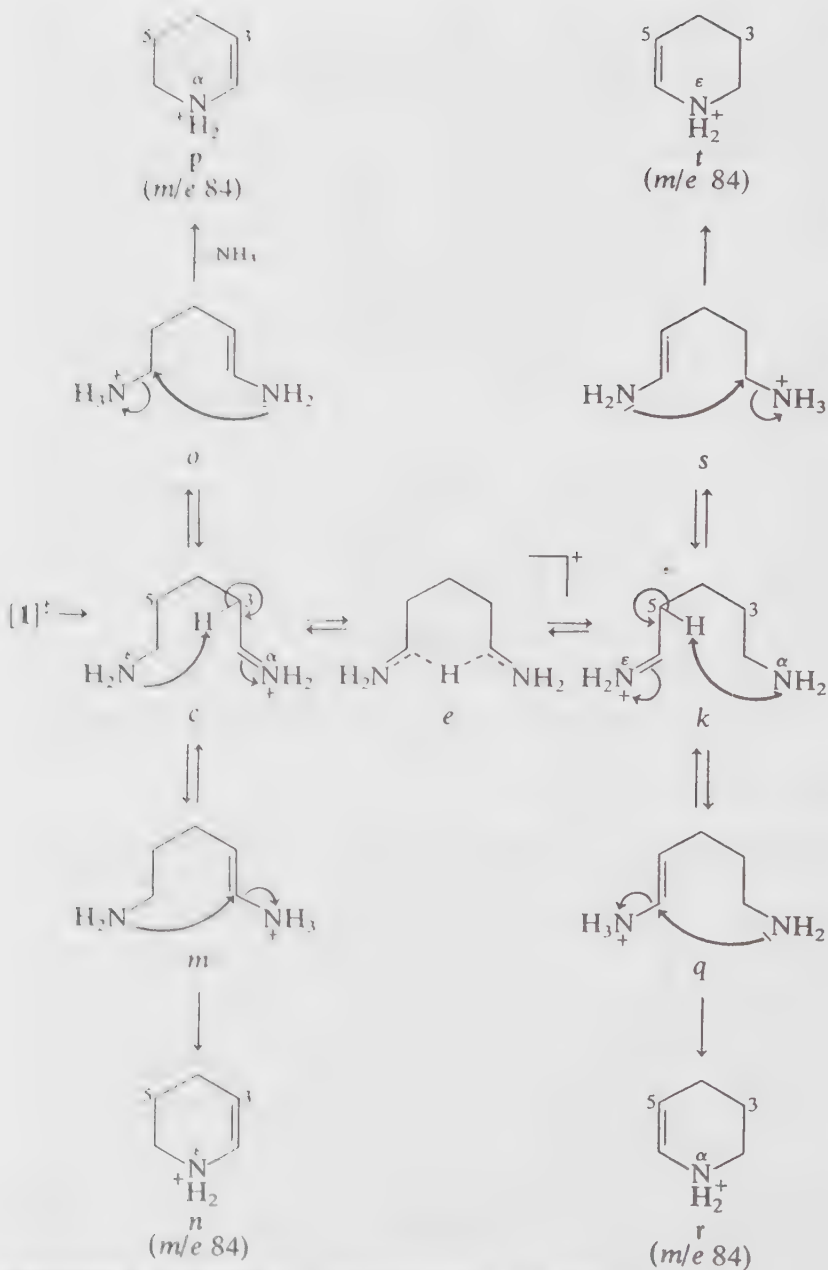
Schema 3. Mechanismus zur Bildung von m/e 84 aus Lysin-methylester (**1**).

experimentellen Befunde dadurch erklären, dass beide Seiten des Gleichgewichtes c und k und beide Ammoniakabspaltungsmechanismen verschieden gewertet würden. Für das durch COOCH_3 -Abspaltung aus dem Molekularion entstehende Diaminfragmention c wird über e wiederum ein isomeres Ion k formuliert. Die Fragmentionen c und k stehen im Gleichgewicht mit m bzw. q (analog einem Enamin-Imin-Gleichgewicht). c und k reagieren analog dem bereits in Schema 3 postulierten Ammoniakabspaltungsmechanismus zu p bzw. t ab, während m und q nach dem in Schema 4 formulierten Mechanismus unter Ammoniakverlust in n bzw. r übergehen.

Nimmt man ferner an, dass c teilweise bereits nach n und p abreagiert hat, bevor sich c via e mit k ins Gleichgewicht gesetzt hat, so werden die Produkte aus dem linken Teil des Schemas 4, nämlich n und p, häufiger sein als die entsprechenden aus dem rechten Teil - r und t. Ausserdem muss man annehmen, dass der Ammoniakabspaltungsmechanismus für $\underline{m} \rightarrow \underline{n}$ resp. $\underline{q} \rightarrow \underline{r}$ gegenüber jenem für $\underline{c} \rightarrow \underline{p}$ resp. $\underline{k} \rightarrow \underline{t}$ Priorität hat.

Unter diesen Voraussetzungen ist n das häufigste, t das am wenigsten häufige Ion, p und r sollten etwa gleiche Bildungswahrscheinlichkeit haben.

Aufgrund von Messungen der metastabilen Uebergänge nach der Defokussierungstechnik wurde festgestellt, dass ein zweiter Entstehungsweg für das Ion $[\text{M} - (\text{COOCH}_3 + \text{Ammoniak})]^+$ existiert. Dieser Prozess entspricht einer primären NH_3 -Abspaltung aus dem Molekularion, gefolgt von $\cdot\text{COOCH}_3$ -Verlust. Im Spektrum von $1\cdot 2\text{HCl}$ wird der Peak des $[\text{M} - \text{NH}_3]^+$ -Ions bei m/e 143 begleitet von Signalen bei m/e 144 und 142. In den Spektren der markierten Derivate ist eine exakte Bestimmung der Intensitäten der Einzelsignale deshalb nicht möglich. Einzig aus dem Spektrum von $1f\cdot 2\text{HCl}$ ist ersichtlich, dass aus dem Molekularion zum Teil NH_2D abgespalten wird. Bei der nachfolgenden Eliminierung von $\cdot\text{COOCH}_3$ müsste in diesem Spektrum ein Peak bei m/e 85 statt 86 auftreten, was jedoch nicht gefunden



Schema 4. Alternativer Mechanismus zur Bildung von m/e 84 aus Lysinmethylester (1).

wurde, vgl. Tabelle 2. Es darf u.a. daher angenommen werden, dass der erwähnte zweite Entstehungsweg von untergeordneter Bedeutung ist und höchstens zu einem kleinen Teil zum Aufspaltungsmuster für das Ion $[M - (COOCH_3 + \text{Ammoniak})]^+$ beiträgt.

Bei allen voranstehend diskutierten Fragmentierungsreaktionen wurden möglicherweise auftretende Isotopie-Effekte nicht berücksichtigt.

1.2.3. Synthesen

Als Ausgangsmaterial für Lysinmethylester-2- ^{15}N -dihydrochlorid (1a·2HCl) diente 6-Aminohexansäure, die nach einer Schotten-Baumann-Benzoylierung sowie einer Bromierung mit $\text{Br}_2/\text{P}_{\text{rot}}$ und anschliessender Veresterung mit $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ nach Fischer in 6-Benzamido-2-brom-hexansäureäthylester (3) übergeführt wurde. Nach Umsetzen mit Kalium-Phthalimid- ^{15}N zu 4, gefolgt von saurer Hydrolyse wurde das entstandene Lysin-dihydrochlorid (2a·2HCl) zu 1a·2HCl verestert.

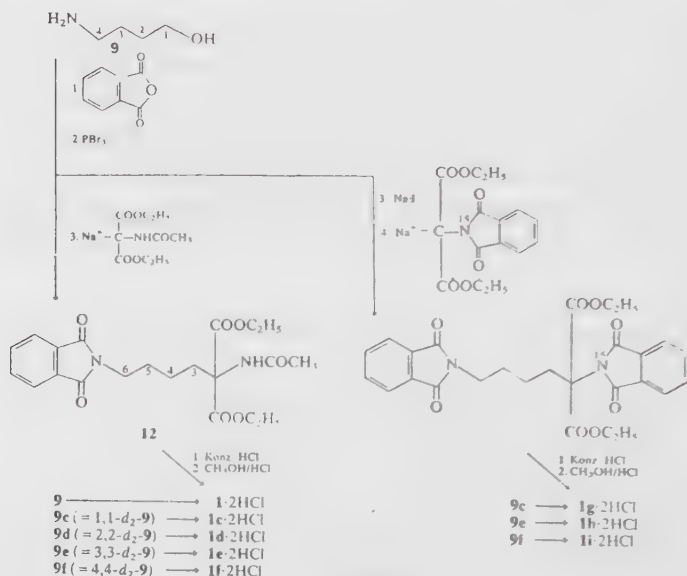
Zur Synthese von Lysinmethylester-2- d_1 -dihydrochlorid (1b·2HCl) wurde von 2-Acetamido-2-äthoxycarbonyl-5-cyano-valeriansäureäthylester (5) (hergestellt aus Acetamido-malonsäurediäthylester und 4-Brombutyronitril) ausgegangen. Nach katalytischer Hydrierung mit Acetanhydrid (Bildung von 6) wurde mit konz. Deuteriosalzsäure hydrolysiert und decarboxyliert, worauf durch anschliessende Veresterung 1b·2HCl erhalten wurde.

Als Edukt zur Synthese von Lysinmethylester-3,3- d_2 -dihydrochlorid (1c·2HCl) wurde 4-Aminobuttersäure eingesetzt, die nach Tritylierung der Aminogruppe zu 7 mit LiAlD_4 zur Verbindung 8 reduziert wurde. Nach Abspaltung der Tritylgruppe bildete sich 4-Amino-1-butanol-1,1- d_2 (9c) als Hydrochlorid. Die Phthaloylierung der Aminogruppe mit Phthalsäureanhydrid, die anschliessende Bromierung und die Umsetzung mit Acetamido-

malonsäurediäthylester führte zur Verbindung 12, die nach saurer Hydrolyse zu 1c·2HCl verestert wurde (Schema 5).

Lysinmethylester-4,4-d₂-dihydrochlorid (1d·2HCl) wurde aus 4-Aminobuttersäuremethylester, der trityliert wurde, hergestellt. Der 4-Tritylaminobuttersäuremethylester (14) wurde in CH₃OD unter Zusatz katalytischer Mengen CH₃ONa deuteriert, anschliessend mit LiAlH₄ die Esterfunktion reduziert und die Tritylgruppe abgespalten. Das erhaltene Produkt 9d (4-Amino-1-butanol-2,2-d₂) wurde gemäss Schema 5 zu 1d·2HCl umgesetzt. 4-Trityloxy-1-butyronitril (17) wurde mit D₂O/KCN in 4-Trityloxy-1-butyronitril-2,2-d₂ (18) umgewandelt, mit LiAlH₄ reduziert und hydrolysiert, was 9e (4-Amino-1-butanol-3,3-d₂) ergab. Entsprechend Schema 5 wurde 9e in 1e·2HCl umgewandelt.

Die Reduktion von 17 mit LiAlD₄ ergab nach Hydrolyse 9f (4-Amino-1-butanol-4,4-d₂), welches in 1f·2HCl überführt wurde, vgl. Schema 5.



Schema 5

Die Phthaloylierung der Aminogruppe in 9c, gefolgt von einer Bromierung mit PBr_3 , ergab das Bromid 11, welches via sein Jodid mit dem Natriumsalz des Phthalimido- ^{15}N -malonsäurediäthylesters (21) zu 2-Aethoxycarbonyl-2-phthalimido- ^{15}N -6-phthalimidohexansäureäthylester-3,3- d_2 umgesetzt wurde. Nach Hydrolyse, Decarboxylierung und Veresterung mit methanolischer Salzsäure erhielt man 1g· 2HCl (Schema 5).

Die Synthese von Lysinmethylester-5,5- d_2 -2- ^{15}N -dihydrochlorid (1h· 2HCl) gelang ausgehend von 9e gemäss Schema 5. In entsprechender Weise wurde aus 9f 1i· 2HCl hergestellt.

1.3. Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen

Abdampfoperationen am Rotationsverdampfer (RV) wurden im Normalfall bei 50°C , bei DMF und Wasser bei 85°C ausgeführt; Trocknung von Chloroform- und Aetherausgüssen über Na_2SO_4 ; Reste von Lösungsmitteln wurden bei 0,004 Torr entfernt; Smp mit 'Mettler FP 5'; Dünnschichtchromatogramme mit Kieselgel (HF_{254} , Merck; Elutionsmittel Aether oder Aether/Pentan 9:1); Papierchromatogramme auf Whatman No. 1 (Elutionsmittel Methanol/konz. wässrige NH_3 20:1); präp. Schichtchromatogramme, wenn nicht anders angegeben, mit Kieselgel (PF_{254}G , Merck, Elutionsmittel Aether/Pentan 9:1); Säulenchromatogramme, wenn nicht anders angegeben, mit Kieselgel (60 für SC, Merck, Korngrösse 0,063-0,200 mm, Elutionsmittel Aether). Die Sichtbarmachung von Lysin und Lysinmethylester auf den Chromatogrammen erfolgte mit Ninhydrin, die der anderen stickstoffhaltigen Verbindungen mit dem Kaliumjodoplatinat-Reagens und aller übrigen Verbindungen mit KMnO_4 -Reagens. Die Dihydrochloride von 1-11 sind papierchromatographisch rein. Die NMR-Spektren (Gerät: Varian T-60) der Dihydrochloride von 1, 1a, 1b und 1c wurden in CD_3OD , alle anderen in CDCl_3 bei 60 MHz relativ zu

internem TMS aufgenommen. Chemische Verschiebungen (δ) in ppm, s = Singulett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multi-plett. Die Massenspektren (Tabelle 3) (MS) der Verbindungen 1·2HCl-11·2HCl wurden mit dem Gerät Varian MAT 711 (70 eV, 8 kV, Direkteinlass, 110°C), die MS aller übrigen Verbindungen mit dem Gerät CEC Typ 21-110 B (70 eV, 8 kV, Direkteinlass, Heizwendel) aufgenommen. Angaben in m/e (rel. %) ab m/e 30 (> 5% ausser [M]⁺). Die Hochauflösung (HR) der Peaks in den Spektren von 1·2HCl-11·2HCl wurde mit dem Gerät Varian MAT 711 ausgeführt. Abkürzungen: DMF = Dimethylformamid, TMS = Tetramethylsilan.

1. Lysinmethylester-dihydrochlorid (1·2HCl)

2 g Lysin-dihydrochlorid (2·2HCl, Fluka puriss.) wurden in 20 ml abs. CH₃OH gelöst, HCl-Gas bis zur Sättigung eingeleitet und 16 Std. stehen gelassen. Anschliessend wurde abs. Aether bis zu einer leichten Trübung zugegeben, worauf der Ester als Hydrochlorid langsam auskristallisierte. Das so erhaltene Produkt wurde in CH₃OH gelöst und durch Zugabe von Aether in der geschilderten Weise umkristallisiert. Ausbeute: 1,8 g. NMR: 4,07 (t, J ≈ 7 Hz, C(2)H), 3,87 (s, OCH₃), 2,97 (t, J ≈ 8 Hz, C(6)H₂), 2,2-1,4 (m, C(5)H₂ + C(4)H₂ + C(3)H₂). MS: s. Abb. 1; HR: 143 (C₇H₁₃NO₂), 101 (C₅H₁₁N₂), 88 (C₃H₆NO₂), 84 (C₅H₁₁ON), 72 (C₄H₉ON).

C ₇ H ₁₃ N ₂ O ₂ ·2HCl	Ber.	C 36,06	H 7,78	N 12,02%
(233,151)	Gef.	C 36,21	H 7,90	N 11,60%

2. Synthese von Lysinmethylester-2-¹⁵N-dihydrochlorid (1a·2HCl)

2.1. 6-Benzamido-2-brom-hexansäureäthylester (3) vgl. Lit. 5. 5g 6-Benzamido-2-brom-hexansäure, hergestellt durch Bromierung (Br₂/P_{rot}) von 6-Benzamidohexansäure, die ihrerseits aus 6-Aminohexansäure bereitet wurde [6], kochte man 3 Std. unter Rückfluss mit 50 ml abs. C₂H₅OH und 1,5 ml konz. Schwefelsäure.

Dann wurde die Hauptmenge des überschüssigen Alkohols am RV entfernt, der Rückstand in CHCl_3 aufgenommen, die organische Phase mit gesättigter Sodalösung und Wasser gewaschen und dann getrocknet. Ausbeute: 4,1 g. NMR: 7,9-7,3 (m, C_6H_5), 6,50 (s, N-H), 4,4-4,0 (m, $\text{C}(2)\text{H} + \text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$), 3,43 (m, $\text{C}(6)\text{H}_2$), 2,3-1,1 (m, $\text{C}(5)\text{H}_2 + \text{C}(4)\text{H}_2 + \text{C}(3)\text{H}_2$, darin bei 1,23 t, $J \approx 7$ Hz, $\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$). MS: m/e 343 ($[\text{M}]^+$, 3), 341 ($[\text{M}]^+$, 3), 263 (5), 176 (8), 162 (9), 148 (5), 135 (6), 134 (8), 122 (5), 106 (8), 105 (100), 82 (6), 80 (6), 77 (33), 51 (9), 41 (5).

2.2. 6-Benzamido-2-phthalimido- ^{15}N -hexansäureäthylester (4). 340 mg der Verbindung 3 und 187 mg Kalium-phthalimid- ^{15}N (Prochem/BOC Ltd, Anreicherung Atom% ^{15}N mindestens 99%) wurden in 2 ml DMF gelöst, auf 90°C erhitzt und 1 Std. bei dieser Temperatur gehalten. Das kalte Reaktionsgemisch wurde mit 10 ml Wasser verdünnt, mit CHCl_3 extrahiert, die Chloroformphase mit Wasser gewaschen und dann getrocknet. Ausbeute: 350 mg. NMR: 7,8-7,2 (m, $\text{C}_6\text{H}_4 + \text{C}_6\text{H}_5$), 6,45 (s, N-H), 4,82 (t, $J \approx 8$ Hz, $\text{C}(2)\text{H}$), 4,19 (q, $J \approx 7$ Hz, $\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$), 3,41 (m, $\text{C}(6)\text{H}_2$), 2,24 (m, $\text{C}(3)\text{H}_2$), 2,0-1,1 (m, $\text{C}(5)\text{H}_2 + \text{C}(4)\text{H}_2$), darin bei 1,20 t, $J \approx 6$ Hz, $\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$).

2.3. Lysin-2- ^{15}N -dihydrochlorid (2a·2HCl). 350 mg der Verbindung 4 wurden mit 10 ml konz. Salzsäure 18 Std. unter Rückfluss gekocht und dann auf ca. 2 ml eingedampft. Die nach dem Abkühlen auskristallisierten Benzoesäure und Phthalsäure wurden abfiltriert und das Filtrat mit CHCl_3 extrahiert. Die Wasserphase wurde zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 2 ml abs. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ gelöst, filtriert und durch Zugabe von Ätner das Lysin-dihydrochlorid ausgefällt. Ausbeute: 140 mg.

2.4. Lysinmethylester-2- ^{15}N -dihydrochlorid (1a·2HCl). 140 mg der Verbindung 2a·2HCl wurden in 5 ml abs. CH_3OH gelöst, HCl -Gas bis zur Sättigung eingeleitet und analog Versuch 1 gearbeitet. Ausbeute: 110 mg. NMR: 4,07 (t, $J \approx 7$ Hz, $\text{C}(2)\text{H}$),

Tabelle 3. Massenspektren der markierten Lysinmethylester-dihydrochloride bei 70 eV (% rel. Int.)^a

<i>m/e</i>	rel. %	1a-2HCl 2- ¹⁵ N	1b-2HCl 2-d ₁	1c-2HCl 3,3-d ₂	1d-2HCl 4,4-d ₂	1e-2HCl 5,5-d ₂	1f-2HCl 6,6-d ₂	1g-2HCl 3,3-d ₂ -2- ¹⁵ N	1h-2HCl 5,5-d ₂ -2- ¹⁵ N	1i-2HCl 6,6-d ₂ -2- ¹⁵ N
163										
162										
161		1	1	1	1	1	1	1	1	1
146				1	2	1	2	1	1	2
145			2	2	3	2	3	1	1	2
144		2	3				2			1
143		1								
131							1	1		2
130				2	2	2	2			
129		2	2				1	1		
116				1			1			
115							1			1
114		1	1		2	2	1		1	
113						1	2			1
112					1	2	2			
105					1	2	2			1
104			2				2	5	4	7
103			2	6	8	6	10	1	2	2
102		6	8	2	3	2	2			1
101		1	3	1	1	1	2		1	1
100		1				2	1		2	
95						1	2			1
94						1	1			
91										1
90		2	2					2	1	1
89		8	10	5	2	2	1	9	7	8
88			5	8	9	9	11	2	2	4
87		3	1	3	10	6	13	2 ^b	22 ^b	48 ^b
86		4	10	42 ^b	100	48 ^b	100	37 ^b	48 ^b	52 ^b
85		50 ^b	100	46 ^b	7	40 ^b	10	31 ^b	24 ^b	6
84		50 ^b	12	12 ^b	5	12 ^b	5	7 ^b	6 ^b	3
83		4	6	2	3	3	3	2	1	2
82		2	3	1	2	2	2			1
81			2		2	2	3			2
80			3		3	3	3			1
79			3		3	3	2			1
78			1		1	1	1			
76								1		
75		1	1	2	3	2	2	16	14	2
74		2	3	20	22	17	4	3	3	4
73		21	23	2	3	3	4	4	3	18
72		4	5	5	4	4	22	3	3	3
71		3	4	2	3	4	4	2	3	4
70		3	4	1	3	3	5	1	2	3
69		2	3	3	5	3	7	3	3	5
68		1	8	4	4	5	5	4	4	3
67			3	2	2	3	2	3	2	1
66			1			1	1			
65		1								
61					3	2	3	2	2	4
60			2	2	2	3	3	1		2
59		4	3	4	5	4	4	6	5	6
58		4	5	5	21	7	13	12	8	9
57		18	20	16	8	14	17	13	20	18
56		15	20	13	11	15	14	12	5	4
55		8	7	2	5	5	6	2	4	5
54		2	5	2	3	4	5	2	1	2
53		1	3	3	3	4	4		1	2
52		1	4	2	2	3	4		1	2
51			2	2	2	2	2			1
50			2		1	2	3		2	
47						1	2		2	
46				3		4	3	3	2	3
45		5	6	10	3	4	4	10	3	6
44		12	16	6	9	7	12	8	5	15
43		11	10	6	17	14	18	6	12	15
42		5	9	6	11	10	9	5	8	4
41		6	9	4	5	6	6	4	2	3
40			3	1	3	3	3	1	1	2
39		2	4	1	1	2	3	1	1	2
38		18	22	15	21	24	28	13	11	20
37		2	3	2	3	3	4	2	2	2
36		52	67	45	62	70	76	36	35	58
35		5	8	5	6	6	7	6	5	6
34			1							
33		4	4	3	4	3	5	7	3	4
32		4	7	4	7	8	44	6	3	36
31		10	13	8	9	11	12	8	9	13
30		37	42	30	40	40	10	33	31	4

^a Angaben ab *m/e* 30 (> 1% rel. Int.) Bei Peaks > 1% rel. Int. wurde auf ganze Zahlen auf- bzw. abgerundet.

^b Der besseren Vergleichbarkeit halber sind bei jenen Spektren, die eine Aufspaltung des Basispeaks (vom Ion [M-(COOCH₃+Ammoniak)]⁺) zeigen, die 100% rel. Intensität auf die betreffenden Peaks aufgeteilt.

3,87 (s, O-CH₃), 2,97 (t, J ≈ 8 Hz, C(6)H₂), 2,2-1,4 (m, C(5)H₂ + C(4)H₂ + C(3)H₂). MS: s. Tabelle 3.

3. Synthese von Lysinmethylester-2-d₁-dihydrochlorid (1b·2HCl)

3.1. 2-Acetamido-2-äthoxycarbonyl-5-cyano-valeriansäureäthylester (5), vgl. Lit. 7. 10 ml abs. C₂H₅OH wurden mit 285 mg Na versetzt. Nach dem Abreagieren des Na wurden 2,835 g Acetamidomalonsäurediäthylester (Fluka, purum) zugegeben, dann langsam 2,37 g 4-Brom-butyronitril (Fluka, pract., redest.) zugetropft und das Reaktionsgemisch unter Rückfluss 18 Std. gerührt. C₂H₅OH wurde abgedampft, der Rückstand in Aether aufgenommen, säulenchromatographisch (Elutionsmittel Aether/Pentan 9:1) und schliesslich durch Kugelrohrdestillation (bei 110°C/0,1 Torr) gereinigt. Ausbeute: 1,65 g. IR (CCl₄, Angabe in cm⁻¹): 3420 (N-H), 2980, 2940, 2910, 2880 (CH, CH₂), 2250 (C≡N), 1740 (C=O), 1690 Amid), 1490, 1370, 1270, 1200, 1100, 1040, 860. NMR: 6,90 (s, NH), 4,30 (q, J ≈ 7 Hz, OCH₂CH₃), 2,7-2,0 (m, C(3)H₂ + C(4)H₂ + C(5)H₂, darin bei 2,07 (s, NHCOCH₃), 1,28 (t, J ≈ 7 Hz, OCH₂CH₃). MS: m/e 284 ([M]⁺, 1), 211 (17), 170 (10), 169 (100), 95 (22), 54 (14), 43 (48), 42 (9), 41 (8).

3.2 2-Aethoxycarbonyl-2,6-diacetamidohexansäureäthylester (6), vgl. Lit. 7. 300 mg der Verbindung 5 wurden in 5 ml Acetanhydrid gelöst und mit 50 mg PtO₂ 12 Std. bei leichtem H₂-Ueberdruck hydriert. Nach dem Abzentrifugieren des Katalysators und Abdampfen des Acetanhydrids wurde das Produkt schichtchromatographisch gereinigt und dann aus Aether umkristallisiert. Ausbeute: 180 mg. Smp: 131,5-132,4°C. MS: m/e 330 ([M]⁺, 4), 258 (5), 257 (36), 228 (6), 217 (5), 211 (6), 186 (6), 171 (10), 157 (9), 156 (90), 142 (7), 141 (11), 115 (5), 114 (8), 112 (6), 100 (5), 99 (13), 82 (17), 72 (7), 70 (6), 69 (7), 68 (5), 56 (15), 55 (10), 54 (8), 44 (10), 43 (100), 42 (16), 41 (15), 30 (39).

3.3. Lysin-2-d₁-dihydrochlorid (2b·2HCl). 180 mg der Verbindung 6 wurden mit 5 ml konz. DCl (Fluka: DCl ca. 38% in D₂O puriss., 99,5 Atom% D) 18 Std. unter Rückfluss gekocht, danach das Reaktionsgemisch bis zur Trockne eingedampft, in 2 ml C₂H₅OH gelöst, filtriert und durch Zugabe von Aether das Lysindihydrochlorid ausgefällt. Ausbeute: 90 mg.

3.4. Lysinmethylester-2-d₁-dihydrochlorid (1b·2HCl). 90 mg der Verbindung 2b·2HCl wurden analog Versuch 1 zum entsprechenden Methylester umgesetzt. Ausbeute: 72 mg. NMR: 3,87 (s, OCH₃), 2,97 (t, J ≈ 8 Hz, C(6)H₂, 2,2-1,4 (m, C(5)H₂ + C(4)H₂ + C(3)H₂). MS: s. Tabelle 3.

4. Synthese von Lysinmethylester-3,3-d₂-dihydrochlorid (1c·2HCl)

4.1. 4-Tritylaminobuttersäure (7). 2,6 g 4-Aminobuttersäure (Fluka, purum) und 3,4 g Tritylchlorid (Fluka, purum) wurden in 60 ml DMF unter Zusatz von 6 ml Triäthylamin 18 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde das kristalline Triäthylamin-hydrochlorid abfiltriert, das Filtrat am RV eingeeengt und säulenchromatographisch gereinigt. Ausbeute: 3,96 g. Smp: 137,6-138,9°C. MS: m/e 345 ([M]⁺, 2), 269 (18), 268 (100), 259 (7), 258 (34), 244 (16), 243 (62), 242 (6), 240 (6), 194 (5), 182 (13), 180 (5), 167 (6), 166 (11), 165 (55), 104 (24), 91 (8), 78 (6), 77 (24), 69 (6), 51 (14), 45 (10), 43 (7), 42 (7), 41 (17), 39 (8), 30 (32).

4.2. 4-Tritylamino-1-butanol-1,1-d₂ (8). 3,96 g der Verbindung 7, gelöst in ca. 300 ml abs. Aether, wurden bei starkem Rühren zu einer Suspension von 700 mg LiAlD₄ (Merck, D-Gehalt mind. 99%) in 100 ml abs. Aether zugetropft und anschliessend 18 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach der Zerstörung des überschüssigen LiAlD₄ mit Wasser wurde vom Aluminiumhydroxidniederschlag abfiltriert und der Aether abgedampft. Rohrausbeute: 3,6 g. MS: m/e 333 ([M]⁺, 10), 259 (11), 258 (49), 257

(26), 256 (100), 244 (28), 243 (90), 241 (7), 239 (7), 183 (6), 182 (25), 181 (5), 167 (7), 166 (10), 165 (47), 154 (5), 105 (5), 104 (17), 78 (8), 77 (14). MS der undeutierten Verbindung: m/e 331 ($[M]^+$, 10), 259 (9), 258 (38), 255 (20), 254 (93), 244 (38), 243 (100), 241 (10), 239 (10), 183 (14), 182 (18), 167 (12), 166 (16), 165 (73), 154 (9), 152 (8), 105 (18), 104 (28), 91 (10), 88 (22), 78 (10), 77 (39).

4.3. 4-Amino-1-butanol-1,1- d_2 -hydrochlorid ($9c \cdot HCl$). 3,6 g der Verbindung 8 wurden mit 50 ml konz. Salzsäure 0,5 Std. auf $80^\circ C$ erhitzt, filtriert, das Filtrat mit $CHCl_3$ gewaschen, am RV eingengt und Reste von Wasser im Vakuum entfernt. Ausbeute: 1,2 g.

4.4. 4'-Hydroxy-butylphthalimid-4',4'- d_2 (10). 1,2 g der Verbindung $9c \cdot HCl$ wurden mit 1,42 g Phthalsäureanhydrid in 20 ml DMF unter Zusatz von 3 ml Triäthylamin 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde das kristalline Triäthylamin-hydrochlorid abfiltriert, das DMF am RV abgezogen, der Rückstand in $CHCl_3$ aufgenommen, mit gesättigter Sodalösung, dann mit Wasser gewaschen, $CHCl_3$ abgedampft und das Produkt aus Äther umkristallisiert. Ausbeute: 825 mg. Smp: $56-57^\circ C$. NMR der undeutierten Verbindung: 7,77 (m, C_6H_4), 3,9-3,5 (m, $C(1)H_2 + C(4)H_2$), 2,50 (s, O-H), 2,0-1,4 (m, $C(2)H_2 + C(3)H_2$). MS der undeutierten Verbindung: m/e 219 ($[M]^+$, 5), 189 (6), 174 (7), 173 (7), 161 (17), 160 (100), 150 (5), 149 (59), 148 (10), 133 (7), 130 (13), 105 (13), 104 (17), 102 (5), 77 (20), 76 (21), 75 (7), 71 (17), 51 (6), 50 (12), 41 (6), 39 (5), 31 (10).

4.5. 4'-Brom-butylphthalimid-4',4'- d_2 (11). 825 mg der Verbindung 10 wurden mit PBr_3 (im Ueberschuss) überschichtet, 6 Std. stehen gelassen, anschliessend langsam auf $80^\circ C$ erhitzt und 1 Std. bei dieser Temperatur gelassen. Nach dem Abkühlen wurde vorsichtig mit 100 ml Eiswasser versetzt, das

Produkt mit Aether extrahiert und säulenchromatographisch gereinigt. Ausbeute: 735 mg. Smp: 77,8-79,2°C. NMR der undeuterten Verbindung: 7,71 (m, C₆H₄), 3,68 (m, C(1)H₂), 3,39 (m, C(4)H₂), 2,0-1,6 (m, C(2)H₂ + C(3)H₂). MS: m/e 285 ([M]⁺, 3), 283 ([M]⁺, 3), 205 (5), 204 (36), 174 (5), 161 (11), 160 (100), 130 (6), 105 (6), 104 (11), 77 (11), 76 (15), 50 (8). MS der undeuterten Verbindung: m/e 283 ([M]⁺, 3), 281 ([M]⁺, 3), 281 ([M]⁺, 3), 203 (5), 202 (35), 174 (5), 161 (11), 160 (100), 130 (8), 105 (9), 104 (14), 77 (6), 76 (22), 75 (7), 74 (5), 51 (5), 50 (12).

4.6. 2-Acetamido-2-äthoxycarbonyl-6-phthalimidohexansäure-äthylester-3,3-d₂ (12). 7 ml abs. C₂H₅OH wurden mit 57 mg Na versetzt. Nach dem Abreagieren des Na wurden 540 mg Acetamidomalonsäurediäthylester, dann langsam 717 mg der Verbindung 11, gelöst in abs. C₂H₅OH zugetropft und das Reaktionsgemisch unter Rückfluss 18 Std. gerührt, C₂H₅OH wurde abgedampft, der Rückstand schichtchromatographisch gereinigt und aus Aether umkristallisiert. Ausbeute: 463 mg. Smp: 114,4-115,7°C. NMR der undeuterten Verbindung: 7,70 (m, C₆H₄), 6,76 (s, NH), 4,19 (q, J ≈ 7 Hz, OCH₂-CH₃), 3,60 (t, J ≈ 8 Hz, C(6)H₂), 2,33 (m, C(5)H₂), 2,00 (s, COCH₃), 1,8-1,0 (m, C(3)H₂ + C(4)H₂, darin bei 1,19 (t, J ≈ 7 Hz, OCH₂-CH₃)). MS: m/e 420 ([M]⁺, 3), 375 (5), 348 (19), 347 (80), 306 (16), 305 (75), 301 (28), 300 (33), 232 (8), 231 (44), 230 (33), 217 (13), 186 (6), 171 (15), 161 (7), 160 (45), 149 (7), 148 (9), 133 (5), 130 (40), 117 (9), 105 (11), 104 (14), 102 (9), 84 (11), 83 (11), 77 (19), 76 (18), 75 (6), 70 (5), 57 (12), 56 (10), 55 (7), 51 (5), 50 (8), 45 (10), 44 (13), 43 (100), 42 (6), 41 (9). MS der undeuterten Verbindung: m/e 418 ([M]⁺, 3), 373 (7), 346 (22), 345 (100), 304 (14), 303 (77), 300 (14), 299 (67), 285 (8), 230 (13), 229 (76), 217 (15), 186 (8), 174 (5), 171 (17), 161 (7), 160 (44), 157 (10), 148 (16), 133 (5), 130 (38), 115 (9), 112 (7), 105 (12), 104 (13), 102 (7),

82 (24), 77 (17), 76 (14), 68 (7), 56 (9), 55 (15), 54 (9), 50 (6), 44 (11), 43 (87), 42 (12), 41 (15), 31 (5).

4.7. Lysin-3,3-d₂-dihydrochlorid (2c·2HCl). 461 mg der Verbindung 12 wurden mit 10 ml konz. Salzsäure hydrolysiert und analog Versuch 3.3 aufgearbeitet. Ausbeute: 130 mg.

4.8. Lysinmethylester-3,3-d₂-dihydrochlorid (1c·2HCl). 130 mg der Verbindung 2c·2HCl wurden analog Versuch 1 verestert. Ausbeute: 100 mg. NMR: 4,07 (s, C(2)H), 3,87 (s, OCH₃), 2,97 (t, J ≈ 8 Hz, C(6)H₂), 2,0-1,4 (m, C(5)H₂ + C(4)H₂). MS: s. Tabelle 3.

5. Synthese von Lysinmethylester-4,4-d₂-dihydrochlorid (1d·2HCl)

5.1. 4-Aminobuttersäuremethylester-hydrochlorid (13). 2 g 4-Aminobuttersäure wurden in 50 ml abs. CH₃OH gelöst, HCl-Gas bis zur Sättigung eingeleitet, 20 Std. stehen gelassen und dann das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Ausbeute: 2,97 g. NMR (in CD₃OD): 3,67 (s, O-CH₃), 3,00 (t, J ≈ 8 Hz, C(4)H₂), 2,45 (t, J ≈ 7 Hz, C(2)H₂), 2,2-1,6 (m, C(3)H₂).

5.2. 4-Tritylaminobuttersäuremethylester (14). 2,7 g der Verbindung 13 und 4,9 g Tritylchlorid wurden in 40 ml CHCl₃ und 4 ml Triäthylamin gelöst und 12 Std. bei 20°C gerührt. Dann wurde mit Wasser gewaschen, die organische Phase getrocknet und nach Entfernung von CHCl₃ aus Aether/Pentan umkristallisiert. Ausbeute: 5,9 g. Smp: 69,5-70,0°C. MS: m/e 359 ([M]⁺, 1), 282 (16), 261 (10), 260 (46), 258 (7), 244 (5), 243 (15), 184 (14), 183 (100), 182 (22), 181 (6), 165 (16), 155 (20), 154 (19), 106 (8), 105 (87), 91 (6), 78 (9), 77 (60), 51 (16), 50 (6).

5.3. 4-Tritylaminobuttersäuremethylester-2,2-d₂ (15). 10 mg Na wurden zu 10 ml CH₃OD (Merck, D-Gehalt mind. 99%) gegeben,

nach der Reaktion des Na 1,3 g der Verbindung 14 zugegeben und 18 Std. unter Rückfluss gekocht. CH_3OD wurde nun entfernt, der Rückstand in 10 ml CH_3OD gelöst, nochmals 18 Std. erhitzt, nach erneuter Entfernung des CH_3OD in CHCl_3 aufgenommen, mit Wasser geschüttelt, die organische Phase getrocknet und anschliessend CHCl_3 entfernt. Ausbeute: 1,2 g. MS: m/e 361 ($[\text{M}]^+$, 5), 298 (9), 285 (12), 284 (60), 283 (16), 261 (9), 260 (42), 259 (13), 258 (34), 244 (19), 243 (67), 241 (10), 239 (8), 184 (16), 183 (80), 182 (17), 181 (7), 167 (7), 166 (11), 165 (56), 164 (6), 155 (20), 154 (22), 153 (6), 152 (10), 115 (7), 106 (11), 105 (100), 104 (12), 103 (9), 91 (9), 87 (6), 85 (24), 83 (37), 78 (14), 77 (85), 76 (9), 63 (6), 59 (12), 51 (33), 50 (11), 47 (10), 39 (9), 30 (5).

5.4. 4-Tritylamino-1-butanol-2,2- d_2 (16). 1,1 g der Verbindung 15 wurde analog 4.2 mit LiAlH_4 reduziert und wie üblich aufgearbeitet. Ausbeute: 0,98 g. MS: m/e 333 ($[\text{M}]^+$, 3), 288 (9), 260 (20), 259 (7), 258 (15), 257 (9), 256 (30), 244 (19), 243 (48), 242 (8), 241 (10), 240 (5), 239 (11), 215 (6), 211 (12), 184 (10), 183 (55), 182 (16), 181 (7), 167 (10), 166 (14), 165 (57), 164 (11), 163 (7), 155 (14), 154 (20), 153 (10), 152 (15), 151 (5), 139 (6), 115 (8), 106 (11), 105 (100), 104 (18), 91 (11), 90 (12), 78 (17), 77 (92), 76 (9), 75 (9), 74 (9), 63 (9), 57 (6), 52 (7), 51 (42), 50 (18), 45 (6), 43 (7), 41 (5), 39 (14), 30 (16).

5.5. Lysinmethylester-4,4- d_2 -dihydrochlorid (1d· 2HCl). 800 mg der Verbindung 16 wurden analog 4.3 zu Verbindung 9d, und diese entsprechend 4.4 bis 4.8 zu 1d· 2HCl umgesetzt. Ausbeute: 30 mg. MS: s. Tabelle 3.

6. Synthese von Lysinmethylester-5,5-d₂-dihydrochlorid
(1e·2HCl)

6.1. 4-Trityloxy-1-butyronitril (17). 2,4 g 3-Chlorpropanol und 7,1 Tritylchlorid wurden in 25 ml Pyridin gelöst, 16 Std. bei 20°C gerührt, das Pyridin am RV abgezogen, der Rückstand in CHCl₃ gelöst, mit Wasser gewaschen und anschliessend die CHCl₃-Phase getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels am RV wurde zum Reaktionsprodukt 2,1 g NaCN und 20 ml Triäthylenglykol gegeben, auf 140°C erhitzt und ca. 30 min. bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in Wasser gegossen, das dabei ausgefällte Reaktionsprodukt mit Wasser gewaschen und aus Aether/Pentan umkristallisiert. Ausbeute: 6,7 g. Smp: 112-113°C. NMR: 7,6-7,1 (m, C₆H₅), 3,15 (t, J ≈ 7 Hz, C(4)H₂), 2,35 (t, J ≈ 7 Hz, C(2)H₂), 1,7-2,0 (m, C(3)H₂). MS: m/e 328 ([M+1]⁺, 8), 327 ([M]⁺, 32), 351 (9), 250 (44), 244 (27), 243 (68), 241 (9), 239 (8), 183 (14), 167 (9), 166 (12), 165 (48), 106 (9), 105 (100), 78 (13), 77 (61), 55 (6), 54 (6), 52 (5), 51 (17), 50 (6), 41 (16), 39 (9).

6.2. 4-Trityloxy-1-butyronitril-2,2-d₂ (18). 3 g der Verbindung 17 wurden zusammen mit 15 ml D₂O (Chemische Fabrik Uetikon, mind. 99,9% D), 20 ml Dioxan und 1,5 g KCN 5 Std. im Bombenrohr (120-130°C) erhitzt. Das Produkt wurde in Aether aufgenommen, mit Wasser gewaschen und anschliessend aus Aether/Pentan umkristallisiert. Ausbeute: 2,9 g. NMR: 7,6-7,1 (m, C₆H₅), 3,15 (t, J ≈ 7 Hz, C(4)H₂), 1,80 (t, J ≈ 7 Hz, C(3)H₂). MS: m/e 329 ([M]⁺, 3), 252 (20), 244 (16), 243 (44), 242 (8), 241 (9), 239 (8), 183 (10), 166 (11), 165 (55), 106 (11), 105 (100), 78 (12), 77 (86), 63 (7), 51 (27), 50 (7), 43 (18), 42 (8), 39 (10).

6.3. 4'-Brom-butylphthalimid-2',2'-d₂ (19). 2,9 g der Verbindung 18, gelöst in ca. 200 ml abs. Aether, wurden unter starkem Rühren zu einer Suspension von 250 mg LiAlH₄ in 50 ml

abs. Aether zugetropft und anschliessend 18 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Zerstörung des überschüssigen LiAlH_4 mit Wasser wurde vom Aluminiumhydroxid-Niederschlag abfiltriert und der Aether abgedampft. Das Produkt wurde analog 4.3 zu Verbindung 9e·HCl, und diese entsprechend 4.4 und 4.5 zu 19 umgesetzt. Ausbeute: 450 mg. MS: m/e 285 ($[\text{M}]^+$, 1), 283 ($[\text{M}]^+$, 1), 204 (8), 203 (6), 176 (6), 175 (15), 161 (15), 160 (100), 149 (8), 133 (8), 130 (11), 105 (20), 104 (22), 102 (11), 78 (5), 77 (34), 76 (34), 75 (12), 74 (8), 73 (6), 51 (11), 50 (19), 43 (8), 42 (5), 39 (5), 31 (15).

6.4. Lysinmethylester-5,5-d₂-dihydrochlorid (1e·2HCl). 200 mg der Verbindung 19 wurden analog 4.6 bis 4.8 zu 1e·2HCl umgesetzt. Ausbeute: 35 mg. MS: s. Tabelle 3.

7. Synthese von Lysinmethylester-6,6-d₂-dihydrochlorid (1f·2HCl)

7.1. 4-Trityloxy-1-butylamin-1,1-d₂ (20). 2,7 g der Verbindung 17 wurden entsprechend 6.3 mit 250 mg LiAlD_4 (Merck, D-Gehalt mind. 99%) reduziert. Rohausbeute: 2,6 g. MS: m/e 337 ($[\text{M}]^+$, <1), 245 (8), 244 (39), 243 (70), 242 (6), 241 (7), 239 (6), 204 (12), 203 (7), 183 (7), 167 (24), 166 (16), 165 (42), 154 (14), 152 (8), 136 (13), 135 (6), 122 (7), 121 (7), 120 (15), 119 (7), 117 (6), 116 (7), 115 (5), 106 (8), 105 (38), 91 (16), 90 (70), 89 (7), 87 (7), 86 (40), 78 (22), 77 (28), 76 (6), 75 (5), 74 (22), 73 (21), 72 (7), 71 (7), 69 (12), 68 (10), 63 (6), 62 (17), 61 (12), 60 (67), 59 (6), 58 (6), 57 (11), 55 (6), 51 (12), 50 (7), 48 (10), 47 (6), 46 (10), 45 (80), 44 (17), 43 (100), 42 (21), 41 (30), 40 (10), 39 (27), 38 (6), 32 (27), 31 (12), 30 (10).

7.2. 4-Amino-1-butanol-4,4-d₂-hydrochlorid (9f·2HCl). 2,6 g der Verbindung 20 wurden mit 40 ml konz. Salzsäure 0,5 Std. auf 80°C erhitzt, filtriert, das Filtrat mit CHCl_3 gewaschen,

am RV eingeeengt und Reste von Wasser im Vakuum entfernt. Ausbeute: 0,88 g.

7.3. Lysinmethylester-6,6-d₂-dihydrochlorid (1f·2HCl).

400 mg der Verbindung 9f wurden analog Abschnitt 4.4 bis 4.8 zu 1f·2HCl umgesetzt. Ausbeute: 74 mg. MS: s. Tabelle 3.

8. Synthese der doppelt (²H, ¹⁵N) markierten Lysinmethylester-dihydrochloride

8.1. Phthalimido-¹⁵N-malonsäurediäthylester (21). 500 mg Brommalonsäurediäthylester wurden mit 390 mg Kalium-Phthalimid-¹⁵N in 16 ml DMF bei 110°C 3 Std. umgesetzt und das Produkt schichtchromatographisch auf Alox (Elutionsmittel: CHCl₃) gereinigt. Ausbeute: 500 mg. MS: m/e 306 ([M]⁺, 3), 262 (11), 261 (9), 235 (9), 234 (53), 233 (40), 189 (16), 188 (63), 187 (15), 177 (6), 162 (23), 161 (100), 149 (25), 148 (13), 141 (7), 133 (9), 132 (34), 131 (22), 115 (8), 105 (9), 104 (50), 103 (7), 77 (14), 76 (38), 75 (10), 74 (7), 69 (8), 50 (18), 44 (6).

8.2. 4'-Iod-butylphthalimid-1',1'-d₂ (22). 300 mg der Verbindung 9f·HCl wurden analog 4.4 und 4.5 zur entsprechenden Bromverbindung umgesetzt und dann 100 mg davon mit 65 mg NaI in 2 ml Aceton 12 Std. unter Rückfluss gekocht. Ausbeute: 110 mg. MS: m/e 331 ([M]⁺, 2), 205 (10), 204 (62), 163 (11), 162 (100), 161 (10), 148 (5), 130 (12), 104 (8), 78 (8), 76 (13), 57 (7), 50 (7).

8.3. Lysinmethylester-6,6-d₂-2-¹⁵N-dihydrochlorid (1i·2HCl). 4,6 mg Na wurden in 2 ml abs. C₂H₅OH gegeben, nach Beendigung der H₂-Entwicklung 62 mg der Verbindung 21 und 68 mg der Verbindung 22 zugegeben und anschliessend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde auf 150°C erhitzt und 2 Std. bei dieser Temperatur gehalten, das Reaktionsprodukt

in CHCl_3 aufgenommen, mit Wasser gewaschen und die organische Phase schichtchromatographisch (Alox, Elutionsmittel: CHCl_3) gereinigt. Anschliessend wurde analog 4.7 und 4.8 hydrolysiert und verestert. Ausbeute: 7 mg. MS: s. Tabelle 3.

8.4. Lysinmethylester-3,3-d₂-2-¹⁵N-dihydrochlorid (lg·2HCl). 60 mg der Verbindung 11 wurden analog 8.2 zum entsprechenden Iodid, und dieses gemäss 8.3 zu lg·2HCl umgesetzt. Ausbeute: 9 mg. MS: s. Tabelle 3.

8.5. Lysinmethylester-5,5-d₂-2-¹⁵N-dihydrochlorid (lh·2HCl). 60 mg der Verbindung 19 wurden analog 8.2 zum entsprechenden Iodid, und dieses gemäss 8.3 zu lh·2HCl umgesetzt. Ausbeute: 8 mg. MS: s. Tabelle 3.

2. Das unterschiedliche massenspektrometrische Fragmentierungsverhalten von Lysinmethylester und dessen N,N'-Di-acetylderivat

2.1. Zusammenfassung

Für das Fragmention $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}$ (m/e 84), das im Massenspektrum von Lysinmethylester als Basispeak auftritt, wird die cyclische Struktur g (Schema 1) postuliert. Während dessen Bildung aus dem $[\text{M}-\text{COOCH}_3]$ -Ion findet eine Aequilibrierung der beiden Stickstoffatome statt (Ion c, Schema 1). Die cyclische Natur des Ions m/e 84 steht im Einklang mit der Intensität der entsprechenden Ionen in den Spektren von Homologen von Lysinmethylester (Fig. 1). Obwohl im Vergleich zu Lysinmethylester (1) der N,N'-Diacetyllysinmethylester (7) den gleichen Fragmentierungsweg mit Bildung der Ionen $[\text{M}-\text{COOCH}_3]$ und $[\text{M}-\text{COOCH}_3-\text{H}_2\text{NCOCH}_3]$ (m/e 126) zeigt, ist der Fragmentierungsmechanismus verschieden. Zwei Mechanismen für die Bildung der Ionen m/e 126 aus 7 (Schemata 2 und 3) werden diskutiert. Die Resultate basieren auf den Spektren von markierten Derivaten.

2.2. Theoretischer Teil

In der vorhergehenden Untersuchung wurde dem häufigsten Ion m/e 84 im Massenspektrum von Lysinmethylester (1) [8], aufgrund von Stabilitätsüberlegungen, die cyclische Struktur g zugeschrieben und für seine Entstehung die im Schema 1 angegebene Fragmentierungsreaktion vorgeschlagen.

Die Alternative zur Struktur g wäre eine offenkettige Struktur mit zwei Doppelbindungen. Ein Entscheid zugunsten der cyclischen oder der offenkettigen Struktur wurde in vergleichbaren Fällen durch die Analyse der Massenspektren homologer Verbindungen getroffen. Es hat sich gezeigt [9-11], dass 5-, 6- und 7-gliedrige cyclische Ionen im allgemeinen zu intensiveren Signalen Anlass geben als kleiner- und grösser-gliedrige cyclische Ionen. Im vorliegenden Fall wurden Homologe des Lysinmethylesters synthetisiert und massenspektrometrisch untersucht. Die Intensität der dem Ion m/e 84 im Spektrum von 1 entsprechenden Ionen der Homologen sind in Fig. 1 graphisch dargestellt. Wie erwartet liegt das Intensitätsmaximum bei 6-gliedrigen Ionen. Die relativ grosse Intensität von m/e 42 im Spektrum von 2 (2,3-Diaminopropionsäuremethylester, $n=1$) ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass Fragmente anderer Genese und anderer Struktur bei gleicher Massenzahl registriert werden.

Im Schema 1 wird für das zu g (m/e 84) führende Ion $[M-COOCH_3]$ die Struktur c angegeben. Mit dieser Formulierung des Ions m/e 101 - beide Stickstoffatome α und ϵ sind völlig gleichwertig und bezüglich ihrer Bindung an die C-Atome 2 und 6 nicht unterscheidbar - im Einklang stehen die Befunde aus den Spektren markierter Verbindungen [8]. Auch Ornithinmethylester (4) zeigt das gleiche Phänomen der Äquivalenz der N-Atome im $[M-COOCH_3]^+$ -Ion (vgl. exper. Teil), wie aus der Analyse des Massenspektrums von 2- $[^{15}N]$ -Ornithinmethylesterdihydrochlorid (4a·2HCl) hervorgeht.

2, n=1 1, n=4
3, n=2 5, n=5
4, n=3 6, n=6

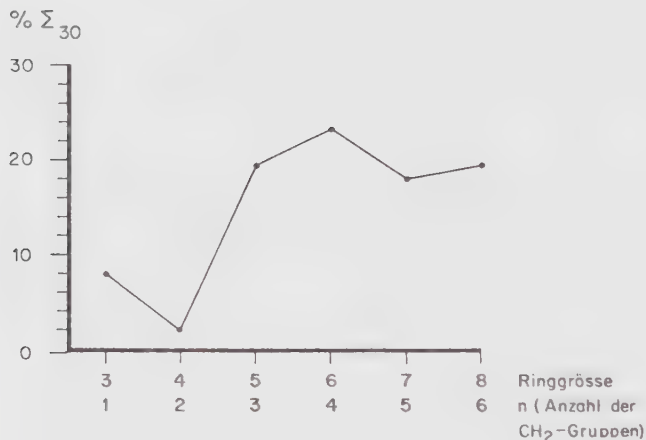
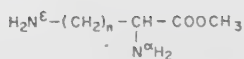
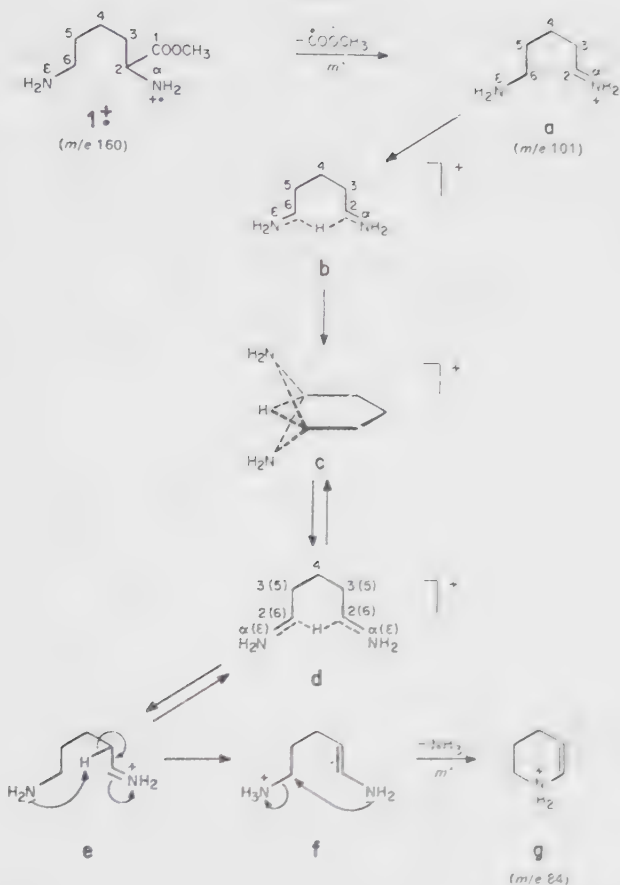


Fig. 1. Abhängigkeit der Intensität des $[\text{M}-\text{COOCH}_3-\text{NH}_3]^+$ -Ions von der Anzahl der Methylengruppen in den Spektren von α,ω -Diamino-alkylcarbonsäuremethylestern

Die Ursache für die rasche Aequilibrierung der beiden N-Atome - ausgedrückt durch Ion c - liegt vermutlich in der starken Nukleophilie der beiden primären Aminogruppen. Wird die Nukleophilie herabgesetzt, z.B. durch Diacetylierung, so dürfte sich die Aequilibrierung gegenüber der Weiterfragmentierung so stark verlangsamen, dass sie nicht mehr nachweisbar ist. In der Tat zeigen N,N'-Diacetyllysinsmethylester (7, Fig. 2) und dessen markierte Derivate 7a-g ein von Lysinsmethylester (1) verschiedenes Verhalten.

Schema 1



N,N'-Diacetyl-lysinmethylester (7) spaltet zunächst die Estergruppe ab, was zu m/e 185 (h; vgl. Schema 2) führt. Das Ion m/e 185 verliert anstelle von NH₃ (bei 1) Acetamid, wodurch das häufige Ion m/e 126 gebildet wird. Letzteres geht unter Kettenverlust in m/e 84 über. Das abgespaltene Acetamid enthält ausschliesslich das N(α)- und nicht das N(ε)-Atom, wie aus dem Spektrum von 7a hervorgeht. Beim einen der beiden an

N gebundenen H-Atome des Acetamids handelt es sich um das H-Atom von N(α), das zweite H-Atom wird zu etwa gleichen Teilen aus den Stellungen C(3) und N(ϵ) geliefert (als Beweise gelten die Spektren von 7c und 7g). Wie aus den Spektren der markierten Verbindungen 7b und 7d-f hervorgeht, sind die H-Atome an C(2), C(4), C(5) und C(6) bei dieser Reaktion nicht beteiligt.

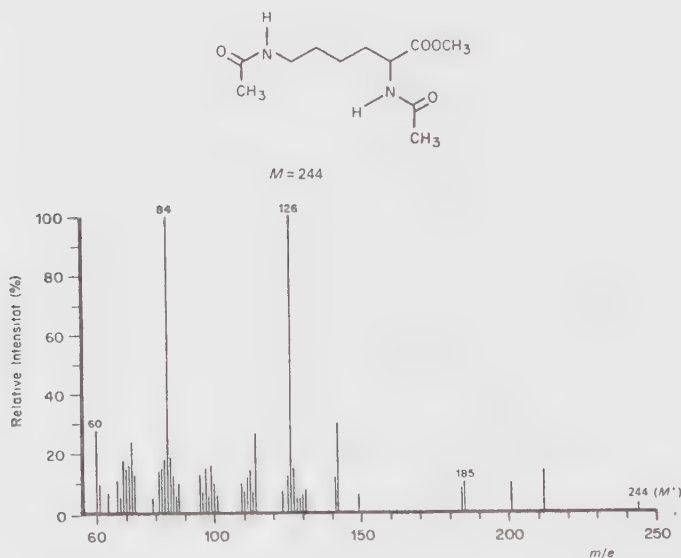
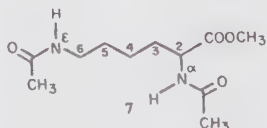


Fig. 2. Massenspektrum (70 eV) von N,N'-Diacetyl-lysinmethylester (7)

In den Schemata 2 und 3 sind verschiedene Mechanismen zur Erklärung der zuvor erwähnten Reaktionen dargestellt. Beide Mechanismen stehen mit den experimentellen Ergebnissen im Einklang.

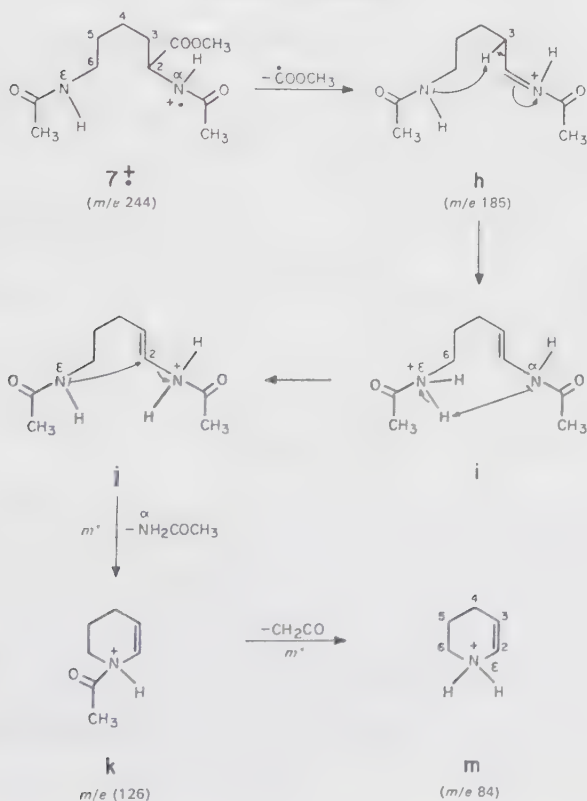


7a, [2- ^{15}N]; b, [2- ^2H]; c, [3,3- $^2\text{H}_2$]; d, [4,4- $^2\text{H}_2$]; e, [5,5- $^2\text{H}_2$]; f, [6,6- $^2\text{H}_2$]; g, [N(α)- ^2H], [N(ϵ)- ^2H]

Mechanismus 1 (Schema 2).

Wie erwähnt, wurde bei der Acetamid-Abspaltung (m/e 185 $\rightarrow$ 126) in gleichem Ausmass ein H-Atom von C(3) wie von N(ϵ) entfernt. Diese beiden H-Atome sind jedoch in h nicht gleichwertig. Es ist deshalb in Analogie zur Fragmentierung von Lysinmethylester (1) anzunehmen, dass eines der beiden "allylständigen" H-C(3) zunächst auf N(ϵ) übertragen wird, wodurch die beiden betrachteten H-Atome gleichwertig werden. In der sich nun anschliessenden erneuten H-Übertragungsreaktion auf N(α) kann dieses entweder das ursprüngliche H-N(ϵ) oder das ehemalige H-C(3) nehmen, vgl. 1 $\rightarrow$ 1 (Schema 2).

Schema 2. Mechanismus 1



Der Angriff von N(ϵ) auf das "vinylische" C(2) in j führt zur Eliminierung von H₂N(α)COCH₃ unter Bildung von k (m/e 126), und der nachfolgende Kettenverlust liefert schliesslich m (m/e 84).

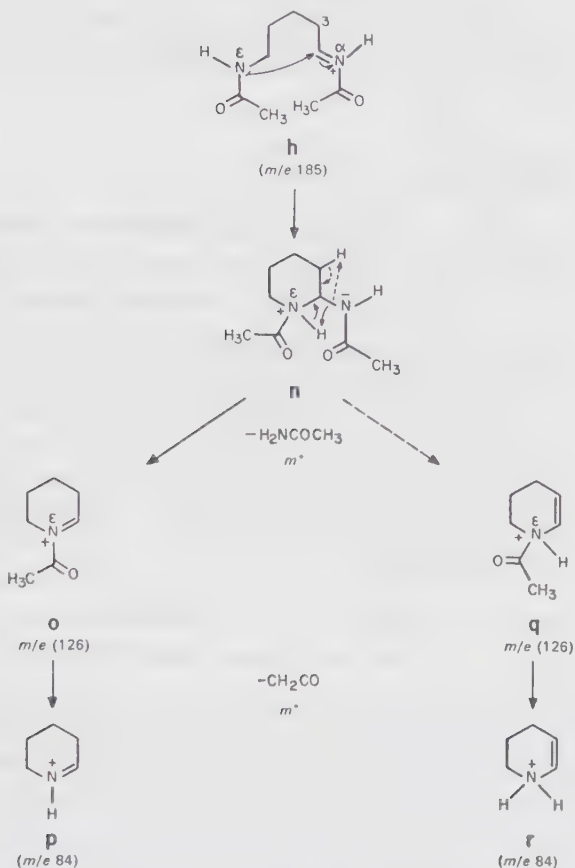
Während die Gleichwertigkeit eines H-C(3) und des H-N(ϵ) durch i befriedigend erklärt wird, müssen bei dieser Formulierung gewisse Unzulänglichkeiten in Kauf genommen werden: Im Ion i wäre ein Angriff von N(α) auf C(6) unter Eliminierung von H₂N(ϵ)COCH₃ denkbar, welcher jedoch aufgrund der experimentellen Befunde auszuschliessen ist. Anstelle dessen muss nochmals eine Wasserstoffatomübertragungsreaktion stattfinden. Ferner ist die Ringschlussreaktion j $\rightarrow$ k eher ungewöhnlich.

Mechanismus 2 (Schema 3). Im Gegensatz zu Mechanismus 1 wird hier der Ringschluss im Ion h (m/e 185) formuliert. Im cyclischen Ion n müssten dann ein H-C(3) und das H-N(ϵ) gleichwertig sein, d.h. es müssten zwei gleichberechtigte 1,2-Eliminierungen eintreten können, wobei unter Verlust von Acetamid sowohl H-N(ϵ) (Bildung von o) als auch ein H-C(3) (Bildung von q) abgespalten wird. Die Ionen o und q sind isomer; aus beiden wird dann unter Bildung von p bzw. r Ketten abgespalten.

Unbefriedigend an diesem Mechanismus ist, dass die beiden 1,2-Eliminierungen trotz der verschiedenen Natur der beteiligten H-Atome in etwa gleichem Ausmass ablaufen müssten, um die experimentellen Befunde erklären zu können.

Bei scheinbar gleichen Fragmentierungen ($M^+ \rightarrow [M - \text{COOCH}_3]^+ \rightarrow$ m/e 84 bei Lysinmethylester bzw. $M^+ \rightarrow [M - \text{COOCH}_3]^+ \rightarrow$ m/e 126 $\rightarrow$ m/e 84 bei N,N'-Diacetyl-lysinmethylester) sind offenbar Reaktivität, Energieverteilung und Isomerisierungs-Energieschwellen des $[M - \text{COOCH}_3]^+$ -Ions stark verschieden. Das unterschiedliche Verhalten ist vermutlich zu einem grossen Teil auf die Differenzen in der Nukleophilie der beteiligten N-Atome zurückzuführen.

Schema 3. Mechanismus 2



Es wurde versucht, eine mit den experimentellen Befunden im Einklang stehende Erklärung für die Bildung des Haupt-Ions m/e 84 aus N,N'-Diacetyl-lysinmethylester (7) zu finden. Obwohl keiner der beiden Mechanismen (Schemata 2 und 3) voll befriedigen kann, stellen wir sie als Anregung zur Diskussion.

Die anderen intensiven Ionen im Spektrum von 7 (Fig. 2) sind aufgrund der Fragmentierung der N,N'-Diacetyl- α,ω -diaminoalkane zu erklären (vgl. [9]).

Synthetisch erhielt man die Diacetylverbindungen durch Acetylierung aus den verschiedenen markierten Lysinmethylestern (bezüglich deren Synthesen, vgl. [8]). Die Homologen des Lysinmethylesters wurden nach herkömmlichen Verfahren synthetisiert (vgl. exper. Teil).

2.3. Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen. S. [8]. Die Massenspektren (MS) der Verbindungen 2·2HCl, 4a·2HCl und 7g (7g wurde unter gleichzeitigem indirektem Einlass von CH₃OD gemessen) wurden mit dem Gerät CEC Typ 21-110 B (70 eV, 8 kV, Direkteinlass, Heizwendel), die MS aller übrigen Verbindungen mit dem Gerät Varian MAT 711 (70 eV, 8 kV, Direkteinlass) aufgenommen. Angaben in m/e (rel.%) ab m/e 30 (für Verbindungen 7 bis 7g ab m/e 60) (≥ 5% ausser M⁺). Die Hochauflösung (HA) der Peaks im Spektrum von 7 wurde mit dem Gerät MAT 711 in Verbindung mit einem Computer ausgeführt.

1. Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Acetylierung von Lysinmethylester. 5 mg Lysinmethylesterdihydrochlorid (1·2HCl) und 20 mg K₂CO₃ wurden in 1 ml Acetanhydrid 3 Tage bei 25° gerührt, das Acetanhydrid im RV entfernt, der Rückstand in CHCl₃ aufgenommen und die Lösung filtriert. Nach Entfernung von CHCl₃ bei 0,001 Torr wurde N,N'-Diacetyl-lysinmethylester (7) in 95proz. Ausbeute erhalten, Smp 105°. NMR: 7,0-6,2 (2m, 2 Amid-NH); 4,7-4,2 (m, H-C(2)); 3,7 (s, COOCH₃); 3,4-3,0 (m, 2H-C(6)); 2,0 und 1,9 (2s, 2NCOCH₃); 1,8-1,1 (m, 2H-C(3), 2H-C(4), 2H-C(5)). MS: Fig. 2. HA: 244 (C₁₁H₂₀N₂O₄), 212 (C₁₀H₁₆N₂O₃), 201 (C₉H₁₇N₂O₃), 185 (C₉H₁₇N₂O₂), 142 (C₇H₁₂NO₂), 126 (C₇H₁₂NO), 84 (C₅H₁₀N).

Zur Synthese der markierten Lysinmethylester-dihydrochloride vgl. [8]. Nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift wurden die folgenden Diacetylderivate hergestellt: [2-¹⁵N]-N,N'-Diacetyl-lysinmethylester (7a), [2-²H]-N,N'-Diacetyl-lysinmethylester

ester (7b), [3,3-²H₂]-N,N-Diacetyl-lysinmethylester (7c), [4,4-²H₂]-N,N'-Diacetyl-lysinmethylester (7d), [5,5-²H₂]-N,N'-Diacetyl-lysinmethylester (7e), [6,6-²H₂]-N,N'-Diacetyl-lysinmethylester (7f); [N,N'-²H₂]-N,N'-Diacetyl-lysinmethylester (7g) wurde hergestellt durch 2maliges Lösen von 10 mg 7 in 1 ml CH₃OD und jeweiligem Entfernen des Lösungsmittels bei 0,001 Torr. Alle Präparate erwiesen sich im DC als einheitlich und identisch mit 7. Der Markierungsgrad aller Verbindungen war > 91% (vgl. [8]) ausser bei 7g: 75%. Bezüglich der Massenspektren vgl. Tabelle.

2. 2,3-Diaminopropionsäuremethylester-dihydrochlorid (2·2HCl). 50 mg 2,3-Diaminopropionsäure-monohydrochlorid (Fluka, puriss.) wurden in 20 ml abs. Methanol gelöst, HCl-Gas bis zur Sättigung eingeleitet, 16 Std. stehen gelassen und anschliessend das Methanol i.V. entfernt. MS: Diese Verbindung lieferte nur schlechte, nicht gut reproduzierbare Spektren, von denen eines angegeben sei: 118 (M⁺, 0), 59 (12), 57 (5), 46 (7), 43 (10), 42 (17), 41 (12), 40 (5), 35 (9), 33 (5), 31 (7), 30 (100).

3. 2,4-Diaminobuttersäuremethylester-dihydrochlorid (3·2HCl). 50 mg 2,4-Diaminobuttersäure-dihydrochlorid (Fluka, puriss.) wurden analog Versuch 2 zu 3·2HCl umgesetzt. MS: 132 (M⁺, 0), 115 (35), 100 (14), 99 (7), 89 (9), 88 (10), 87 (8), 83 (42), 74 (11), 73 (26), 72 (5), 71 (14), 70 (9), 69 (7), 57 (15), 56 (31), 55 (15), 45 (9), 44 (100), 43 (21), 42 (16), 41 (8), 40 (6), 38 (44), 36 (101), 35 (14), 33 (7), 32 (68), 31 (8), 30 (86).

4. Ornithinmethylester-dihydrochlorid (4·2HCl). 50 mg Ornithin-monohydrochlorid (Fluka, puriss.) wurden analog Versuch 2 zu 4·2HCl umgesetzt. MS: 146 (M⁺, <1), 101 (9), 89 (7), 88 (7), 87 (18), 74 (6), 71 (7), 70 (100), 69 (10), 68 (6), 58 (9), 57 (7), 56 (12), 44 (6), 43 (36), 42 (7), 41 (8), 38 (37), 36 (107), 35 (11), 32 (57), 31 (64), 30 (31).

5. Lysinmethylester-dihydrochlorid (1·2HCl). 50 mg Lysin-dihydrochlorid (Fluka, puriss.) wurden analog Versuch 2 zu 1·2HCl umgesetzt. MS: 160 (M^+ , 1), 101 (8), 89 (9), 85 (7), 84 (100), 82 (6), 72 (23), 67 (8), 57 (5), 56 (28), 55 (7), 44 (8), 43 (13), 42 (8), 41 (9), 38 (19), 36 (62), 30 (41).

6. 2,7-Diaminoheptansäuremethylester-dihydrochlorid (5·2HCl). 1 g Phthalsäureanhydrid wurde zusammen mit 0,7 g 5-Aminopentanol 20 Min. auf 150° erhitzt, das Produkt in CHCl₃ gelöst, mit Na₂CO₃-Lösung und Wasser gewaschen und das CHCl₃ anschliessend i.V. entfernt: 1,2 g N-(5-Hydroxypentyl)-phthalimid. Davon wurde 1 g mit PBr₃ (im Ueberschuss) überschichtet, 6 Std. stehengelassen, anschliessend langsam auf 80° erhitzt und 1 Std. bei dieser Temp. gelassen. Nach dem Abkühlen wurde vorsichtig mit 100 ml Eiswasser versetzt, das Produkt mit Aether extrahiert und säulenchromatographisch (Kieselgel; Aether) gereinigt: 0,65 g N-(5-Brompentyl)-phthalimid.

2 ml abs. Aethanol wurden mit 37 mg Na versetzt. Nach Beendigung der H₂-Entwicklung wurden 440 mg Acetamidomalonsäure-diäthylester, dann langsam 600 mg N-(5-Brompentyl)-phthalimid, gelöst in 5 ml abs. Aethanol, zugetropft. Das Gemisch wurde 18 Std. unter Rückfluss gerührt, danach das Aethanol abgedampft und der Rückstand schichtchromatographisch (Kieselgel; Aether/Pentan 4:1) gereinigt: 280 mg.

250 mg des entstandenen 2-Acetamido-2-äthoxycarbonyl-7-phthalimido-heptansäureäthylesters wurden in 10 ml konz. Salzsäure 18 Std. unter Rückfluss gekocht und dann auf ca. 2 ml eingengt. Die nach dem Abkühlen auskristallisierte Phthalsäure wurde abfiltriert und das Filtrat mit CHCl₃ extrahiert. Die Wasserphase wurde zur Trockne eingedampft und der Rückstand (150 mg) in 2 ml abs. Aethanol gelöst. Dazu wurden unter Rühren 75 mg Pyridin in 1 ml Aethanol getropft, wobei 90 mg kristallines 1,7-Diaminoheptansäure-monohydrochlorid ausfiel.

Tabelle. Massenspektren von N,N'-Diacetyl-lysinmethylestern 7-7g bei 70 eV (% rel. Int.)^{a)}

Verbin- dung Nr. Markie- rung m/e	7	7a [2- ¹⁵ N]	7b [2- ² H]	7c [3, 3- ² H ₂]	7d [4, 4- ² H ₂]	7e [5, 5- ² H ₂]	7f [6, 6- ² H ₂]	7g [N(α)- ² H], [N(ε)- ² H]
246				7	5	11	9	5
245		6	7					
244	3							
214				21	12	20	12	7
213		16	12					11
212	14							
203				18	9	15	11	12
202		12	10					
201	10							
187				16	10	18	16	16
186		15	14		7	6	7	5
185	10		7					
148	8							
149	6							
144			6	22	27	23	21	7
143		15	26	31	11	19	18	27
142	30	24	10	9		6		26
141	12						6	
140					7		7	
132		9	9	9	8	7	6	10
131	8	6	5	10	5	8	5	5
130	6				7		9	
129	5	6	8	12	17	16	20	
128	5	9	14	67	80	100	100	20
127	15	18	95	85	17	16	22	80
126	100	100	9	20	8		9	70
125	12	5			6			
123	7							
117				5				
116				40	18	26	17	20
115		15	15	5	6	7	6	28
114	27	16	17	12	8	8	18	6
113	7	8	8	6	5		5	12
112	14	7	6		7	7	8	5
111	12				6			
110	7							
109	10				6			

Tabelle (Fortsetzung)

Verbin- dung Nr.	7	7a	7b	7c	7d	7e	7f	7g
Markie- rung <i>m/e</i>		[2- ¹⁵ N]	[2- ² H]	[3,3- ² H ₂]	[4,4- ² H ₂]	[5,5- ² H ₂]	[6,6- ² H ₂]	[N(α)- ² H], [N(ε)- ² H]
103					7	6	7	5
102			7	9	13	10	14	11
101	6	8	6	15	8	7	7	11
100	10	18	17	10	8	6	6	14
99	16		7	17	10	12	12	7
98	6		6		7		8	
97	15		5		7	5		
96	7							
95	13		5		6			
90								5
89		9	9	11	6	8	8	20
88	10			26	13	14	12	16
87	6	13	15	17	17	11	14	13
86	13	14	17	90	100	92	100	27
85	19	27	100	100	47	23	47	100
84	100	90	13	40	20	12	15	79
83	18	12	13	9	9	10	7	12
82	15	5	6		7			7
81	14				6			
79	5							
75							6	
74				16	11	10	19	13
73	13	14	13	15	13	10	8	26
72	24	22	21	45	25	24	13	8
71	16	10	12	7	12	8	7	13
70	15		7		10	5	9	7
69	18	6	10	5	17	8	14	
68	5		5	5	6	6		
67	11	5	6		8		6	
66					6			
64	7							
61	10			5	7			11
60	28	8	14	11	20	10	34	6

a) Angaben ab *m/e* 60 (nur Pike mit ≥ 5% rel.Int., ausser M⁺)

Davon wurden 50 mg analog Versuch 2 zu Verbindung 5·2HCl umgesetzt. NMR: 4,2-3,9 (t, $J \approx 8$, H-C(2)); 3,8 (s, COOCH₃); 3,1-2,7 (t, $J \approx 8$, 2H-C(7)); 2,2-1,2 (m, 2H-C(3), 2H-C(4), 2H-C(5), 2H-C(6)). MS: 174 (M^+ , 2), 130 (9), 115 (10), 99 (8), 98 (100), 88 (9), 86 (39), 84 (5), 81 (17), 79 (8), 70 (5), 69 (8), 57 (7), 56 (31), 55 (10), 44 (9), 43 (10), 42 (6), 41 (8), 38 (32), 36 (93), 35 (10), 32 (36), 31 (24), 30 (50).

7. 2,8-Diaminooctansäuremethylester-dihydrochlorid (6·2HCl). 1 g 8-Benzamido-2-bromooctansäure (hergestellt durch Bromierung (Br₂/P(rot)) von 8-Benzamidooctansäure [12], die ihrerseits aus 8-Aminooctansäure durch Benzoylierung bereitet wurde [12], wurde mit 5 ml wässrigem Ammoniak ($d_4^{20} = 0,9$) versetzt und 2 Tage bei 25° stehen gelassen. Die Lösung wurde eingedampft und der Rückstand mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen. Der Rückstand, 2-Amino-8-benzamidooctansäure, wurde in 20 ml konz. Salzsäure 18 Std. unter Rückfluss gekocht und dann auf ca. 2 ml eingeeengt. Die nach dem Abkühlen auskristallisierte Benzoesäure wurde abfiltriert und das Filtrat mit CHCl₃ extrahiert. Die Wasserphase wurde zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 2 ml abs. Aethanol gelöst, filtriert und durch Zugabe von Aether das 2,8-Diaminooctansäure-dihydrochlorid ausgefällt. 50 mg davon wurden in 20 ml abs. Methanol gelöst und analog Versuch 2 zu Verbindung 6·2HCl umgesetzt. NMR: 4,2-3,9 (t, $J \approx 8$, H-C(2)); 3,8 (s, COOCH₃); 3,1-2,7 (t, $J \approx 8$, 2H-C(8)); 2,2-1,2 (m, 2H-C(3), 2H-C(4), 2H-C(5), 2H-C(6), 2H-C(7)). MS: 188 (M^+ , 3), 144 (7), 129 (23), 113 (11), 112 (100), 102 (7), 100 (28), 95 (13), 88 (9), 87 (5), 83 (5), 72 (7), 70 (5), 69 (10), 67 (6), 57 (6), 56 (38), 55 (9), 44 (13), 43 (13), 42 (6), 41 (12), 38 (15), 36 (49), 32 (36), 30 (55).

8. [2-¹⁵N]-Ornithinmethylester-dihydrochlorid (4a·2HCl). 2,5 g 5-Benzamido-2-brom-pentansäure (hergestellt durch Bromierung (Br₂/P(rot)) von 5-Benzamidopentansäure [12], die

ihrerseits aus 5-Aminopentansäure durch Benzoylierung bereitet wurde [12], wurden 3 Std. unter Rückfluss mit 50 ml abs. Aethanol und 1,5 ml konz. Schwefelsäure gekocht. Dann wurde die Hauptmenge des überschüssigen Alkohols im RV entfernt, der Rückstand in CHCl_3 aufgenommen, mit gesättigter Na_2CO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, CHCl_3 entfernt und der Rückstand getrocknet: 1,9 g 5-Benzamido-2-brompentansäureäthylester.

100 mg des 5-Benzamido-2-brompentansäureäthylesters und 64 mg [^{15}N]-Kalium-phthalimid (Prochem/BOC Ltd.; mind. 99% ^{15}N) wurden in 2 ml DMF gelöst, auf 90° erhitzt und 1 Std. bei dieser Temp. gelassen. Das Gemisch wurde abgekühlt, mit 10 ml Wasser verdünnt, mit CHCl_3 extrahiert, die Chloroformphase mit Wasser gewaschen, getrocknet und CHCl_3 entfernt: 95 mg (vgl. [8]).

90 mg dieses [$2\text{-}^{15}\text{N}$]-5-Benzamido-2-phthalimido-pentansäureäthylesters wurden in 10 ml konz. Salzsäure 18 Std. unter Rückfluss gekocht und dann auf ca. 2 ml eingengt. Die nach dem Abkühlen auskristallisierte Benzoe- und Phthalsäure wurden abfiltriert und das Filtrat mit CHCl_3 extrahiert. Die Wasserphase wurde zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 2 ml abs. Aethanol gelöst, filtriert und durch Zugabe von Aether 35 mg [$2\text{-}^{15}\text{N}$]-Ornithin-dihydrochlorid ausgefällt, welche in 15 ml abs. Methanol gelöst und analog Versuch 2 zu $4a\cdot 2\text{HCl}$ umgesetzt wurden. $4a\cdot 2\text{HCl}$ erwies sich im DC als identisch mit dem unmarkierten $4\cdot 2\text{HCl}$. MS: 147 (M^+ , 1), 90 (10), 89 (10), 88 (19), 87 (5), 85 (6), 75 (11), 72 (6), 71 (80), 70 (80), 69 (8), 68 (5), 59 (18), 58 (15), 57 (25), 56 (7), 55 (5), 53 (5), 52 (5), 50 (14), 45 (13), 44 (32), 43 (71), 42 (16), 41 (23), 39 (10), 38 (27), 37 (9), 36 (74), 35 (20), 33 (10), 32 (10), 31 (35), 30 (100).

3. Ruspolia hypercrateriformis M.R.: Isolierung und Strukturaufklärung von neuen Pyrrolidin-Alkaloiden

3.1. Zusammenfassung

Drei neue Pyrrolidinalkaloide sind aus *Ruspolia hypercrateriformis*, die zur Pflanzenfamilie der Acanthaceae gehört, isoliert worden. Die Struktur der Alkaloide Ruspolinon (1), Norruspulinon (2) und Norruspolin (3) (Schema 1) wurde mittels der spektroskopischen Daten der reinen Verbindungen und ihren Derivaten, chemischer Transformation von 2 zu 1 durch Methylierung, Ueberführung von 2 und 3 zu identischen Hydrierungsprodukten und durch Vergleich von Abbauprodukten mit synthetisch hergestellten Modellverbindungen abgeleitet.

3.2. Einleitung und Strukturableitung

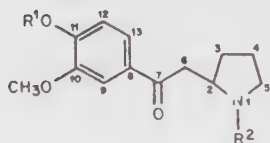
In dieser Mitteilung wird über die drei neuen Pyrrolidin-Alkaloide Ruspolinon (1), Norruspulinon (2) und Norruspolin (3) (Schema 1) aus den Wurzeln von *Ruspolia hypercrateriformis* M.R. berichtet¹⁾. Die Pflanze ist im tropischen Afrika beheimatet und gehört zur Familie der Acanthaceae.

Norruspulinon (2, $C_{13}H_{17}NO_3$, $M = 235$, Smp 175° (Zers.)) zeigt im UV-Spektrum (C_2H_5OH) Banden bei 212 nm ($\log \epsilon = 4,08$), 235 (4,10), 282 (3,97), 309 (3,90) und 353 (3,37, Schulter); in äthanolischer NaOH-Lösung tritt eine Verstärkung der längstwelligsten Absorption ein (352 (4,34)), was auf das Vorliegen einer phenolischen Hydroxylgruppe hindeutet. Im IR-Spektrum (KBr) erscheinen u.a. Banden für OH (3540), NH (3350) und für ein Arylketon (1645, 1575, 1505, 1460 cm^{-1}). Das 1H -NMR-Spektrum ($CD_3OD/CDCl_3$) weist drei aromatische Protonen auf, welche als dxd bei 7,36 (o- und m-Kopplung), als d bei 7,15

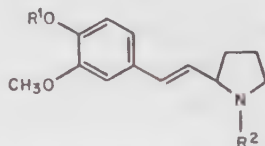
¹⁾ Isolierung und Charakterisierung weiterer Alkaloide aus *R. hypercrateriformis* (aus Fraktion 2 und 3, s. exper. Teil) sind Gegenstand laufender Untersuchungen

(m-Kopplung) bei tiefem Feld und als d bei 6,66 ppm (o-Kopplung) erscheinen. Des weiteren kann die Anwesenheit eines Methyläthers (3,73 ppm, s) und der neben der Carbonylgruppe liegenden Methylenprotonen (3,13 ppm, d) nachgewiesen werden; der Kopplungspartner dieser Methylenprotonen, ein Methinproton, absorbiert bei 3,75-3,50 ppm als m. Aufgrund der chemischen Verschiebung muss sich das Methinproton neben dem Stickstoffatom befinden.

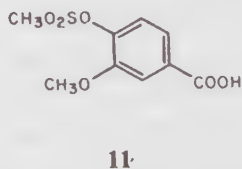
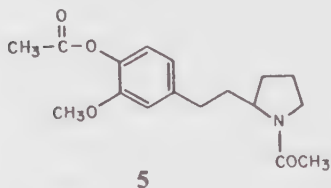
Schema 1²⁾



- 1 $R^1 = CH_3, R^2 = H$, Ruspolinon
- 2 $R^1 = R^2 = H$, Norruspulinon
- 7 $R^1 = CH_3, R^2 = CH_3CO$
- 4 $R^1 = R^2 = CH_3CO$
- 6 $R^1 = R^2 = CH_3$



- 3 $R^1 = R^2 = H$, Norruspulin
- 8 $R^1 = R^2 = CH_3CO$
- 9 $R^1 = CH_3, R^2 = H$
- 10 $R^1 = R^2 = CH_3$
- 12 $R^1 = R^2 = CH_3SO_2$



Norruspulinon (2) lieferte bei der Acetylierung das N,O-Diacetylderivat 4 ($M = 319$). Die katalytische Hydrierung von 4 ergab die entsprechende 7-Desoxo-Verbindung 5 ($M = 305$), welche im IR ($CHCl_3$) die Esterbande bei 1764 und die Bande eines N,N-disubstituierten Amids bei 1630 cm^{-1} zeigt.

2) Aus Gründen der Uebersichtlichkeit und Einheitlichkeit wird die hier angegebene, mit den IUPAC-Regeln nicht übereinstimmende Numerierung der Gerüst-atome verwendet.

Behandlung von 2 mit Diazomethan in Aether lieferte zwei Produkte: O-Methyl-norruspolinon (= Ruspolinon; 1) und N,O-Dimethyl-norruspolinon (6, M=263). 1 erwies sich als identisch (DC, UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, MS und Farbreaktion mit Kaliumhexajodoplatinat-Reagens) mit dem natürlichen Ruspolinon (1).

Ruspolinon (1, $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_3$, M=249). Das UV-Spektrum von 1 [λ_{max} bei 227 nm ($\log \epsilon = 4,24$), 272 (4,05), 302 (3,92)] stimmt mit demjenigen von 3,4-Dimethoxyacetophenon überein [13]. IM IR-Spektrum (CHCl_3) wird die NH-Bande bei 3350 und die Keto-Gruppe bei 1675 cm^{-1} registriert. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ist sehr ähnlich demjenigen von 2, jedoch absorbieren bei 3,94 ppm zwei CH_3O -Gruppen. Von 1 wurde das N-Acetyl-derivat 7 (M=291) bereitet.

Die dritte Base, Norruspolin (3, M=219, $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_2$) zeigt im UV-Spektrum ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) bei Zugabe von Base eine deutliche Rotverschiebung der Absorptionen bei 267 ($\log \epsilon = 4,07$) und 290 nm (3,80, Inflexion) nach 290 (4,06) bzw. 314 nm (4,05), was auf die Anwesenheit einer phenolischen Hydroxylgruppe schliessen lässt. Aufgrund des IR-Spektrums ist im Gegensatz zu 1 und 2 keine Carbonylgruppe vorhanden. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3) werden drei aromatische Protonen als m im Bereich 7,00-6,82 ppm registriert. Charakteristisch ist die Absorption eines ABX-Systems der Protonen an C(7), C(6) und C(2) bei 6,45 ppm (d, $J = 16 \text{ Hz}$, H-C(7)), 6,07 (d x d, $J_1 = 16 \text{ Hz}$, $J_2 = 7 \text{ Hz}$, H-C(6)) und 3,86-3,56 ppm (m, H-C(2)). Aufgrund der Kopplungskonstante sind die Protonen an C(6) und C(7) trans-ständig angeordnet; C(6) ist an ein Zentrum mit einem Methinproton und C(7) an den Benzolring gebunden. Ein Methoxyl erscheint als s bei 3,91 ppm. Das $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3) bestätigt das Vorliegen eines methoxy-hydroxy-disubstituierten Styrylrestes. Der α -substituierte Pyrrolidin-Ring wird durch die Signale bei 61,0 (d, C(2)) und 46,0 ppm (t, C(5)) sowie die beiden t bei 32,3 (C(3)) und 25,2 ppm (C(4)) angezeigt.

Acetylierung von 3 ergab das N,O-Diacetylderivat 8 (M = 303), welches bei der katalytischen Hydrierung in N,O-Diacetyl-6,7-dihydronorruspolin (5, M = 305) übergeführt wurde. Die beiden Präparate 5 aus 3 und aus 2 erwiesen sich als identisch (DC-, UV-, IR-, MS-Evidenz, Farbreaktion mit Kaliumhexajodoplatinat-Reagens).

Aehnlich wie bei der Diazomethan-Behandlung von 2 bildeten sich auch aus 3 durch Methylierung zwei Produkte: O-Methyl-norruspolin (9, M = 233) und N,O-Dimethyl-norruspolin (10, M = 247).

Zur Sicherstellung des Substitutionsmusters am Benzolring wurde Norruspolin (3), welches via 5 mit 2 und letzteres mit 1 korreliert ist, zu O-Mesylvanillinsäure (11) abgebaut: Behandlung von 3 mit Mesylchlorid in Pyridin/Chloroform ergab N,O-Dimesyl-norruspolin (12, M = 375), welches nach Ozonisierung und oxydativer Aufarbeitung in 46proz. Ausbeute 11 (M = 246) lieferte. Das aus 3 erhaltene Präparat erwies sich als identisch (Smp, DC, UV, IR, MS, Farbreaktion mit Kaliumhexajodoplatinat-Reagens) mit aus Vanillin hergestelltem Vergleichsmaterial.

Die Massenspektren der drei Alkaloide 1 - 3 und ihrer Derivate sowie die Hochauflösungsdaten von Molekular- und den Hauptfragmentationen bestätigen die getroffenen Strukturzuordnungen. Dies sei anhand von 2 gezeigt: Die α -Spaltung zur Arylketo-gruppe (Bruch von C(6)-C(7) in Norruspolinon (2)) mit Ladungsverbleib auf dem aromatischen Teil der Molekel ist für das Auftreten des Peaks bei m/e 151 (66% rel. Int.) verantwortlich. Im O-Methylderivat 1 (= Ruspolinon) ist dieser Peak korrekt nach m/e 165 verschoben. Die β -Spaltung zur Arylketo-gruppe (Bruch der C(2), C(6)-Bindung) mit McLafferty-Umlagerung ergibt den Peak bei m/e 166 (26% rel. Int.), der in 1 wiederum erwartungsgemäss nach m/e 180 verschoben ist ³⁾. Die

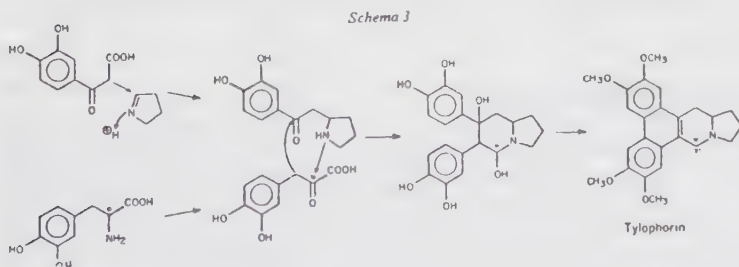
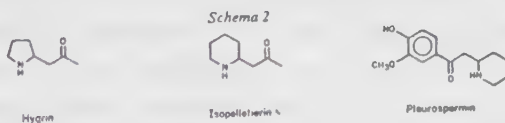
³⁾ Infolge Abwesenheit der Ketogruppe im Hydrierungsprodukt 5 fehlen dort signifikante Peaks, die auf die Spaltung der Bindungen C(6)-C(7) und C(2)-C(6) zurückzuführen wären.

α -Spaltung zum Stickstoffatom (Bruch der C(2), C(6)-Bindung) in 1 und 2 mit Ladungsverbleib auf dem Stickstoffatom ergibt das Fragmention bei m/e 70 (Basispeak; für N,O-Dimethylnorruspolinon (6) erwartungsgemäss nach m/e 84 verschoben), welches die Verknüpfung des Pyrrolidinteils in α -Stellung zum Stickstoffatom bestätigt.

3.3. Biogenetische Aspekte

Alle drei Alkaloide, die nach dem im exper. Teil beschriebenen Verfahren isoliert wurden, sind Racemate. Es ist bekannt, dass asymmetrische Kohlenstoffatome in ähnlicher Umgebung wie derjenigen des Chiralitätszentrums von 1 und 2 sich racemisieren können.

So hat frisch isoliertes Hygrin (Schema 2) eine kleine negative optische Drehung [14], die nach einiger Zeit verschwindet. Die gleiche Erscheinung ist auch bei verwandten Piperidinalkaloiden bekannt. Optisch aktives Isopelletierin (Schema 2)



(bei Aetherextraktion des mit KOH versetzten Pflanzenmaterials wird stets racemisches Material isoliert) racemisiert sich bei pH > 5; die Halbwertszeit der Racemisierung des reinen Alkaloids beträgt in 96proz. Aethanol ($c = 8,18$) bei 23° 34 Std. [15].

Auch das von Gellert [16] und später von Loder [17] beschriebene Piperidinalkaloid Pleurospermin (Schema 2), das ausser dem Piperidyl-Rest die gleichen Struktureinheiten wie Norruspolinon (2) aufweist, lässt sich nur als Racemat aus der Pflanze gewinnen.

Eine reversible Retro-Michael-Reaktion ist ein möglicher Grund für die auch für Ruspolinon (1) und Norruspolinon (2) vermutete Racemisierung. Bei Norruspolin (3) ist die optische Inaktivität durch die Aktivierung des Protons am asymmetrischen Kohlenstoffatom C(2) durch Allylstellung erklärbar. Es ist also durchaus möglich, dass sich die Alkaloide 1 - 3 erst bei der Isolierung aus dem Pflanzenmaterial racemisiert haben.

Die drei neuen Pyrrolidin-Alkaloide 1 - 3 sind strukturell verwandt mit Alkaloiden der Cryptopleurin-Tylophorin-Gruppe. Für die Biogenese von Tylophorin wurde eine Zwischenstufe postuliert [18], die dem Ruspolinon (1) entspricht (Schema 3). Die vorgeschlagene Biogenese von Tylophorin stützt sich u.a. auf den Einbau von markiertem Tyrosin, wobei nach Verabreichung von 2-[^{14}C]-Tyrosin der grösste Teil der Radioaktivität des Tylophorins an C(7') nachgewiesen wurde. Es ist interessant, dass die bis anhin nicht direkt nachgewiesene Zwischenstufe dieser Biogenese nun als Pflanzeninhaltsstoff aufgefunden wurde.

3.4. Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen. Falls nicht anders angegeben, gelten: Trocknung von CHCl_3 und Aetherauszügen über Na_2SO_4 . Eindampfoperationen im Rotationsverdampfer (i. RV) bei maximal 50° Badtemp. und ca. 12 Torr. Dünnschichtchromatogramme (DC) an Kieselgel HF_{254} (Merck). Als Sprühreagens diente das Kaliumhexajodoplatinat-Reagens. Hochdruckflüssigkeitschromatographie auf Varian 8500 mit UV-Detektion bei 280 nm. Analytische Trennungen erfolgten an Lichrosorb SI 60 ($5\text{ }\mu\text{m}$; Merck) in einer slurry-gefüllten Stahlsäule (3 mm (Innendurch-

messer) $\times$ 500 mm), präp. Trennungen an Kieselgel 60 (40-63 μ m; Merck) in einer trockengefüllten Stahlsäule (16,5 mm $\times$ 500 mm). Präp. Proben (100-200 mg) wurden als 30-40proz. Lösungen im Eluierungsmittel via Septum-Injektor bei gestopptem Durchfluss eingeführt. Die Detektion der präp. Probenmengen erfolgte bei maximaler Abschwächung im nicht-linearen Bereich des UV-Detektors (10-mm-Messzelle). Die Angaben bei Lösungsmittelgemischen verstehen sich in Volumenverhältnissen. Die Smp wurden auf dem Mettler FP2-Gerät bestimmt. UV-Spektren in C_2H_5OH ; Angabe von λ_{max} in nm ($\log \epsilon$). S = Schulter, Inflex.= Inflexion, min. = λ_{min} . CD-Spektren in C_2H_5OH ; Angaben in nm ($\Delta \epsilon$). IR-Spektren: Hauptbanden in cm^{-1} . 1H -NMR-Spektren bei 100 MHz, ^{13}C -NMR-Spektren bei 25 MHz, chemische Verschiebungen in ppm relativ zu internem Tetramethylsilan (= 0 ppm), Kopplungskonstanten (J) in Hz, s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, qa = Quadruplett, m = Multiplett, br. = breit. Massenspektren (MS) auf dem Gerät CEC Typ 21-110B (A) und auf Varian MAT 711 (B). Angaben in m/e (rel.%) ab m/e 50 ($\geq 10\%$ ausser M^+). Die Hochauflösung der Peaks wurde mit dem Gerät Varian MAT 711 in Verbindung mit dem Data-System SS-100 MS (Varian MAT) ausgeführt. Abkürzungen: i.V. = im Vakuum.

1. Isolierung der Pflanzenbasen. 3 kg getrocknete und gemahlene Wurzeln von *Ruspolia hypercrateriformis* M.R. wurden 5mal mit je 8 l CH_3OH/CH_3COOH 50:1 extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden i.V. eingedampft, was einen Rohextrakt von 200 g lieferte, der in 800 ml 0,25N wässriger Salzsäure gelöst und über Nacht mit peroxidfremem Aether perforiert wurde, wodurch 23 g ätherlösliche Stoffe abgetrennt wurden, die mit Kaliumhexajodoplatinat-Reagens keine positive Reaktion zeigten. Die wässrige Phase wurde mit ges. wässriger $NaHCO_3$ -Lösung auf pH 4 gebracht, i.RV bis zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 300 ml C_2H_5OH/CH_3OH 1:1 gelöst und von den Salzen abfiltriert. 700 ml Kationenaustauscher Amberlite IRC-50 (in der H^+ -Form, aufgeschlämmt in C_2H_5OH/CH_3OH 1:1) in einer

Chromatographiesäule von 5 cm Innendurchmesser wurden mit 100 ml Filtrat beladen und zwecks Eliminierung nicht kationischer Spezies mit 10 l C₂H₅OH/H₂O 1:1, dann mit 30 l C₂H₅OH gewaschen. Das anschliessende Spülen mit 11 l C₂H₅OH/CH₃COOH 100:1 bis 100:3 lieferte nach Eindampfen i.V. die Hydroacetate der in *R. hypercrateriformis* enthaltenen Alkaloide in drei Fraktionen: 2,4 g Fraktion 1 (Ruspolinon (1), Norruspolinon (2) und Norruspolin (3)), 1,5 g Fraktion 2 (Mischfraktion, alle Alkaloide enthaltend) und 2,7 g Fraktion 3 mit mehreren unbekannten Alkaloiden¹⁾.

Auftrennung von Fraktion 1. Durch präp. DC (CHCl₃/CH₃OH mit NH₃-Gas gesättigt 4:1) wurde das Gemisch in drei mit Ce(SO₄)₂-Reagens positiv reagierende Komponenten, nämlich Ruspolinon (1), Norruspolin (3) und Norruspolinon (2) (Reihenfolge zunehmender Polarität) aufgetrennt. Die weitere Reinigung erfolgte durch präp. DC (CH₃OH/CH₃COOH 10:1) und anschliessende Hochdruckflüssigkeitschromatographie, wobei 15 mg 1, 117 mg 2 und 202 mg 3 in reiner Form erhalten wurden. 2 wurde mit CH₃OH/25proz. wässrigem Ammoniak 999:1 und 3 mit CH₃OH/25proz. wässrigem Ammoniak 985:15 bei 60 ml/Std. und 200 atm (3-mm-Säule) bzw. bei 930 ml/Std. und ca. 10 atm (16,5-mm-Säule) bei 20° eluiert. Die Retentionszeiten lagen zwischen 10 und 30 Min.

2. Ruspolinon (= 2-(2-Pyrrolidiny1)-3',4'-dimethoxy-acetophenon; 1). Zähflüssiges Öl, mit Kaliumhexajodoplatinat-Reagens violett → gelb. UV: max. 227 (4,24), 272 (4,05), 302 (3,92); min. 214 (4,02) 244 (3,43), 289 (3,87) (vgl. UV von 3,4-Dimethoxy-acetophenon in CH₃OH [13]: 227 (4,27, 271,5 (4,06), 301,5 (3,92)). CD (c=0,168): 400-215 (0). IR: (CHCl₃): 3350 (NH), 1675 (Aryl-CO), 1600, 1592, 1517, 1467, 1420, 1265, 1150, 1025. ¹H-NMR (CDCl₃)²⁾: 7,62 (d × d, J = 8, und 2, H-C(13)); 7,56 (d, J = 2, H-C(9)); 6,90 (d, J = 8, H-C(12)); 3,94 (2s, 2 CH₃O); 3,80-3,45 (m, H-C(2)); 3,14 (d,

J = 7, 2H-C(6)); 3,15-2,85 (m, 2H-C(5)); 2,70-2,50 (br. s, H-N); 2,20-1,40 (m, 2H-C(3), -C(4)). MS (B): 249 (M^+ , 27, $C_{14}H_{19}NO_3$), 180 (45, $C_{10}H_{12}O_3$), 165 (50, $C_9H_9O_3$), 84 (16), 70 (100, C_4H_8N), 69 (21).

3. N-Acetyl-ruspolinon (7). 5 mg 1 ergaben nach 16 Std. bei 25° in 1 ml Acetanhydrid/Pyridin 1:1, Abdampfen des Lösungsmittels und präp. DC ($CHCl_3/CH_3OH$ 20:1) 3 mg farbloses, zähflüssiges Oel. MS (B): 291 (M^+ , 33), 248 (50), 166 (11), 165 (100), 126 (15), 112 (11), 84 (53), 70 (91), 69 (10), 68 (16).

4. Norruspolin (= 2-(4-Hydroxy-3-methoxystyryl)-pyrrolidin; 3). Rotbrauner Lack, violett → braun mit Kaliumhexajodoplatinat-Reagens. $[\alpha]_D = 0^\circ$ (c = 0,80, C_2H_5OH). UV: max. 213 (4,12), 267 (4,07), 290 Inflex. (3,80); min. 242 (3,72. UV (0,002N äthanolischer NaOH-Lösung): max. 212 (4,12), 290 (4,06), 314 (4,05); min. 252 (3,56). CD (c = 0,194): 400-215 (0). IR ($CHCl_3$): 3540 (OH), 1605, 1515, 1272. 1H -NMR ($CDCl_3$)²: 7,00-6,82 (m, H-C(9), -C(12), -C(13)); 6,45 (d, J = 16, H-C(7)); 6,07 (d x d, J = 16 und 7, H-C(6)); 3,91 (s, CH_3O); 3,86-3,56 (m, H-C(2)); 3,30-2,90 (m, 2H-C(5), H-N); 2,15-1,40 (m, 2H-C(3), -C(4)). ^{13}C -NMR⁴) ($CDCl_3$; nicht 1H -entkoppelt)²: 147,4 (s); 146,3 (s); 130,4 (d, J = 80); 128,6 (s); 128,5 (d, J = 75); 119,9 (d, J = 83); 115,2 (d, J = 84); 108,4 (d, J = 80); 61,0 (d, J = 42, C(2)); 55,6 (qa. J = 44, CH_3); 46,0 (t, J = 35, C(5)); 32,3 (br. t, J = 17, C(3)); 25,2 (br. t, J = 17, C(4)). MS (B): 220 ($M^+ + 1$, 17), 219 (M^+ , 100, $C_{13}H_{17}NO_2$), 218 (74, $C_{13}H_{16}NO_2$), 216 (43, $C_{13}H_{14}NO_2$), 204 (22, $C_{12}H_{14}NO_2$), 202 (12, $C_{12}H_{12}NO_2$), 191 (33, $C_{11}H_{13}NO_2$), 190 (38, $C_{11}H_{12}NO_2$), 188 (11, $C_{12}H_{14}NO$), 176 (18, $C_{10}H_{10}NO_2$), 174 (38, $C_{11}H_{12}NO$), 137 (27, $C_8H_9O_2$), 96 (18, $C_6H_{10}N$), 94 (31, C_6H_8N), 83 (16, C_5H_9N), 82 (14, C_5H_8N), 70 (33, C_4H_8N), 69 (15), 68 (15).

5. N,O-Diacetyl-norruspolin (8). 25 mg 2 ergaben entsprechend Versuch 3 21 mg 8 als farbloses, zähflüssiges Oel. MS (B):

4) reduzierte Kopplungen

303 (M^+ , 9), 261 (15), 219 (18), 218 (67), 203 (12), 202 (34), 176 (17), 124 (100), 70 (12).

6. Methylierung von Norruspolin (3). Zu 15 mg 3 in 1 ml CH_3OH wurde frisch zubereitetes ätherisches Diazomethan portionenweise zugegeben, bis die Lösung gelb blieb. Nach 4 Std. Stehenlassen bei 25° wurde eingedampft und der Rückstand durch präp. DC ($CHCl_3/CH_3OH$ mit NH_3 -Gas gesättigt 10:1) getrennt, wobei 12 mg O-Methyl-norruspolin (9) als farbloses, zähflüssiges Öl erhalten wurden. MS (B): 234 (M^+ + 1, 15), 233 (M^+ , 100), 232 (72), 218 (52), 205 (15), 204 (38), 202 (38), 190 (19), 174 (27), 151 (38), 91 (17), 70 (24).

Als Nebenprodukt entstand 1 mg N,O-Dimethyl-norruspolin (10), ebenfalls als farbloses, zähflüssiges Öl. MS (B): 248 (M^+ + 1, 18), 247 (M^+ , 100), 246 (60), 233 (13), 232 (70), 230 (18), 218 (38), 217 (11), 216 (40), 204 (23), 189 (14), 188 (20), 165 (13), 164 (21), 160 (10), 152 (11), 151 (80), 115 (15), 110 (28), 96 (90), 92 (19), 91 (15), 84 (46).

7. N,O-Dimesyl-norruspolin (12). 60 mg 3 in 20 ml $CHCl_3$ wurden mit 400 mg Mesylchlorid und 300 mg Pyridin versetzt, 40 Std. bei 25° stehen gelassen, i.V. zur Trockne eingedampft und durch präp. DC (Essigester) gereinigt, wobei 58 mg 12 als zähflüssiges Öl anfielen. MS (B): 375 (M^+ , 25), 297 (15), 296 (81), 294 (16), 218 (12), 217 (38), 216 (100), 202 (25), 201 (38), 189 (25), 188 (13), 186 (14), 175 (14), 174 (15), 157 (14), 108 (12), 70 (15).

8. O-Mesylvanillinsäure (11). 8.1. Durch Ozonolyse von 12. 50 mg 12 in 10 ml $CHCl_3$ wurden bei 0° 1 Std. ozonisiert. Dann wurde das Lösungsmittel i.V. entfernt, der Rückstand in 2 ml CH_3OH gelöst, mit 7 ml Ameisensäure und 4 ml 30proz. H_2O_2 -Lösung (Perhydrol) versetzt, 2 Std. unter Rückfluss gekocht, die Lösung zur Trockne eingedampft, der Rückstand in $CHCl_3$ gelöst, mit ges. wässriger K_2CO_3 -Lösung geschüttelt, die

wässrige Phase mit verd. Salzsäure sauer gestellt und mit CHCl_3 ausgeschüttelt. Präp. DC des Rohproduktes (Benzol/ $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_3\text{COOH}$ 90:10:1) ergab 15 mg (46%) reines 11 vom Smp 166° . UV: max. 211 (4,01), 236 (3,80), 289 (3,37); min. 221 (3,48), 260 (2,42). IR (KBr): 1695 (CO), 1430, 1360, 1302, 1165. MS (A): 246 (M^+ , 28), 168 (14), 167 (55), 139 (15), 121 (18), 111 (37), 96 (18), 95 (19), 81 (17), 79 (100), 77 (18), 68 (18), 65 (11), 63 (17), 62 (11), 53 (15), 52 (15), 51 (57).

8.2. Synthese aus Vanillin. 60 mg Vanillin in 2 ml CHCl_3 wurden mit 32 mg Pyridin und 80 mg Mesylchlorid versetzt, über Nacht bei 25° stehen gelassen und i.V. zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde in Aether gelöst, zunächst mit 2N HCl und dann mit 2N NaOH ausgeschüttelt, die wässrige basische Phase mit verd. Salzsäure sauer gestellt, das Produkt mit Aether ausgeschüttelt und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Der Rückstand (58 mg) wurde in 2 ml CH_3COOH gelöst, die Lösung bei 45° gerührt und portionenweise mit insgesamt 300 mg fein gepulvertem KMnO_4 versetzt. Nach Eindampfen der Lösung i.V. wurde verd. Schwefelsäure zugegeben, mit Aether ausgeschüttelt und das Lösungsmittel abgedampft: 47 mg 11 vom Smp 167 - 168° ([19]: 167 - 169°). DC, UV-, IR- und Massenspektren sind identisch mit denjenigen von 11 aus Versuch 8.1.

9. N,O-Diacetyl-6,7-dihydronorruspolin (5). 21 mg 8 in 4 ml $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_3\text{COOH}$ 20:1 wurden 16 Std. bei 25° in Gegenwart von 50 mg 10proz. Pd/C mit H_2 hydriert und dann vom Katalysator abfiltriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurden 20 mg 5 als zähflüssiges Öl isoliert. UV: max. 215 (3,93), 275 (3,26), 282 (3,23); min. 247 (2,15). IR (CHCl_3): 1764, 1630. MS (A): 305 (M^+ , 6), 263 (15), 137 (12), 113 (46), 112 (19), 91 (13), 77 (10), 70 (100), 68 (12).

10. Norruspolinon (= 2-(2-Pyrrolidinyl)-4'-hydroxy-3'-methoxy-acetophenon; 2). Smp 175° (Zers.), mit Kaliumhexajodo-

platinat-Reagens violett → braun. UV: max. 212 (4,08), 235 (4,10), 282 (3,97), 309 (3,90), 353 S (3,37); min. 223 (3,88), 252 (3,39), 297 (3,88). UV. (0,002N NaOH in Aethanol): 212 (4,14), 252 (3,91), 302 Inflex. (3,55), 352 (4,34); min. 230 (3,52), 272 (3,28). CD (c = 0,214): 400-215 (0). IR (KBr): 3540 (OH), 3350 (NH), 1645 (Aryl-CO), 1575, 1505, 1460, 1335, 1115. $^1\text{H-NMR}$ ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$ 2:1)²: 7,36 (d x d, J = 8 und 2, H-C(13)); 7,15 (d, J = 2, H-C(9)); 6,66 (d, J = 8, H-C(12)); 3,75-3,50 (m, H-C(2)), darin bei 3,73 (s, CH_3O); 3,20-2,85 (m, 2H-C(5)), darin bei 3,13 (d, J = 7, 2H-C(6)); 2,20-1,40 (m, 2H-C(3), -C(4)). MS (B): 235 (M^+ , 14, $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3$), 166 (26, $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$), 151 (66, $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_3$), 123 (22, $\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_2$), 84 (17), 70 (100, $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}$), 69 (19).

11. N,O-Diacetyl-norruspolinon (4). 20 mg 2 wurden analog Versuch 3 umgesetzt und aufgearbeitet, was 18 mg 4 als farblo-loses, zähflüssiges Öl ergab. MS (B): 319 (M^+ , 18), 277 (37), 276 (40), 234 (52), 200 (12), 151 (86), 126 (28), 112 (27), 84 (66), 70 (100), 69 (15), 68 (17).

12. Methylierung von Norruspolinon (2). 25 mg 2 in 2 ml Benzol/ CH_3OH 2:1 wurden analog Versuch 6 mit Diazomethan umgesetzt. Präp. DC (analog Versuch 6) der Produkte lieferte 11 mg 1. DC, Farbreaktion mit Kaliumhexajodoplatinat-Reagens, UV-, IR-, $^1\text{H-NMR}$ - und Massen-Spektren von 1 sind identisch mit denjeni-gen von natürlichem Ruspolinon.

Daneben wurden 5 mg N,O-Dimethyl-norruspolinon (6) als farb-lo-loses Öl erhalten. MS (B): 263 (M^+ , 13), 165 (19), 85 (10), 84 (100), 83 (24), 82 (14).

13. N,O-Diacetyl-6,7-dihydronorruspolin (5). Die katalytische Hydrierung von 24 mg 4, vgl. Versuch 9, lieferte 22 mg 5 als zähflüssiges Öl. Die DC, Farbreaktion mit Kaliumhexajodo-platinat-Reagens, UV-, IR- und Massen-Spektren erwiesen sich als identisch mit denjenigen des Präparates aus N,O-Diacetyl-norruspolin (Versuch 9).

4. Literaturverzeichnis

- [1] W. Vetter, in Biochemical Applications of Mass Spectrometry, hrsgbn. von G.R. Waller, S. 387, Wiley-Interscience, New York (1972).
- [2] K. Biemann, J. Seibl und F. Gapp, J. Am. Chem. Soc. 83, 3795 (1961).
- [3] H. Bosshardt und M. Hesse, Angew. Chem. 86, 256 (1974). Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 13, 252 (1974).
- [4] F. Roessler und M. Hesse, Helv. Chim. Acta 60, 380 (1977).
- [5] N. Weisman und R. Schoenheimer, J. Biol. Chem. 140, 785 (1941).
- [6] Org. Synth. Coll. - Vol. II, 76 (1969).
- [7] E.F. Degering und L.G. Boatright, J. Am. Chem. Soc. 72, 5139 (1950).
- [8] F. Roessler und M. Hesse, Org. Mass Spectr. 12, 83 (1977).
- [9] H.J. Veith, A. Guggisberg und M. Hesse, Helv. Chim. Acta 54, 633 (1971).
- [10] a) H. Bosshardt und M. Hesse, Angew. Chem. 86, 256 (1974); Intern. Ed. 13, 252 (1974) und darin zitierte Arbeiten; b) H. Budzikiewicz und R. Pesch, Org. Mass Spectr. 2, 861 (1974); c) M.A. Winnik, ibid. 2, 920 (1974); d) H. Schwarz, ibid. 10, 384 (1975); e) F. Mayerl und M. Hesse, Helv. Chim. Acta 59, 127 (1976).
- [11] E. Schöpp und M. Hesse, Helv. Chim. Acta 59, 1553 (1976).
- [12] Org. Synth. Coll. - Vol. II, 76 (1969).
- [13] The Sadtler Standard Ultra Violet Spectra, 19204 UV.
- [14] R.K. Hill, in Chemistry of the Alkaloids, Ed. S.W. Pelter, Van Nostrand Reinhold Co., New York (1970), S. 386; R. Lukeš, J. Kovář, J. Kloubek und K. Bláha, Coll. Czechoslov. chem. Commun. 25, 483 (1960).
- [15] F. Galinovsky, G. Bianchetti und O.C. Vogel, Mn. Chem. 84, 1221 (1953).
- [16] E. Gellert, Austral. J. Chemistry 12, 90 (1959).

- [17] J.W. Loder, Austral. J. Chemistry 15, 296 (1962).
- [18] N.B. Mulchandani, S.S. Iyer und L.P. Badheka, Phytochemistry 8, 1931 (1969).
- [19] J.H. Looker, J. org. Chemistry 24, 1039 (1959).

Ich danke Herrn Prof. Dr. W. von Philipsborn und seinen Mitarbeitern für die Aufnahme von NMR-Spektren, dem Mikrolabor unter Leitung von Herrn H. Frohofer für Analysen, die Bestimmung von $[\alpha]_D$ - Werten und die Aufnahme von IR-Spektren. Für die Aufnahmen von Massenspektren danke ich Frau Annalaura Lorenzi und Herrn N. Bild.

Lebenslauf

Am 13. Februar 1947 wurde ich, Felix Roessler, Bürger von St. Gallen (SG) in St. Gallen geboren. Ich bin in Goldach (SG) aufgewachsen und habe vom Frühjahr 1963 bis zur Maturitätsprüfung (Typus D) im Herbst 1967 die Kantonsschule in St. Gallen besucht. Im Herbst 1968 immatrikulierte ich mich an der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich, wo ich Vorlesungen, Uebungen und Praktika bei den folgenden Dozenten besucht habe: K. Bernauer, A.S. Dreiding, C.H. Eugster, H. Fischer, H.-J. Hansen, H.J. Hediger, H. Heimgartner, W. Heinzelmann, M. Hesse, W. Kündig, H. Labhart, F. Laves, W. Ludwig, W.M. Meier, H.R. Oswald, W. von Philipsborn, H. Schmid, D. Schwarzenbach, H. Staub, H. Streuli, M. Viscontini, B.L. van der Waerden, G. Wagnière und H. Werner. Im Frühjahr 1975 wurde ich als Naturwissenschaftler mit Hauptfach Chemie diplomiert. Die anschliessende Dissertation entstand unter der Anleitung von Prof. Dr. M. Hesse. Vom März 1976 bis Oktober 1978 war ich am Organisch-chemischen Institut der Universität Zürich als Assistent angestellt.

